أساسيات الكيمياء الحياتية

الأستاذ الدكتور
سامي المظفر

H_2O CO_2 +



يتداخل علم الكيمياء الحياتية مع العديد من العلوم الأخرى مثل علم الأحياء والكيمياء والفيزياء والطب وغيرها، ويشترك مع هذه العلوم في الكثير من النواحي. لذلك يعتبر موضوع الكيمياء الحياتية من المواضيع الواسعة التي يصعب احتواء مضامينها في كتاب واحد. ولكن، ولغرض توفير المصدر العلمي والمنهجي لطلاب علم الكيمياء الحياتية، بذلنا جهداً متواضعاً لتناول الأمور المهمة والأساسية للكيمياء الحياتية، متوخين الوضوح والإيجاز فيها قدر الإمكان، فكان هذا الكتاب.

تناول الفصل الأول التعريف بالكيمياء الحياتية وطبيعتها وعلاقتها بالعلوم المهمة الأخرى. كعلاقتها بالكائنات الحية والكيمياء والطب أو ما يسمى بالكيمياء الحياتية السريرية ودورها في التحاليل المختبرية وتشخيص الأمراض البشرية، والحالات المرضية المختلفة التي ترتبط بمكونات الدم، وإلى غير ذلك.

تضمن الفصل الثاني الجزيئات والحياة بما في ذلك الجزيئات المعقدة الكبيرة وبعض النماذج من الخلايا الحية ووظائف حجيرات الخلية، وأنواع الخلايا ودورها في الكيمياء الحياتية الجزئية. كما شمل هذا الفصل مواضيع الفايروسات والمايكو بلازما والبكتيريا.

أما الفصل الثالث فقد بحثنا فيه جانباً مهمًا من الكيمياء الحياتية هو الماء والمحاليل، وعلاقتها مع الأحماض والقواعد والمحاليل المنظمة وخصوصاً الفسيولوجية منها إضافة إلى الشوارد أو ما يسمى بالالكتروليتات.

وتعرضنا إلى الدهنيات في الفصل الرابع من حيث تعريفها ووجودها وتقسيمها، والأحماض الدهنية من حيث التسمية والتصنيف والتحضير والتفاعلات وكذلك الدهون والزيوت، صفاتها الكيميائية والفيزيائية وطرق قياس الخواص الكيميائية، وأنواع الدهنيات، كالفوسفوكليسيريدات والدهنيات السفنكولية والستيرويدات بما في ذلك الكولسترول وفيتامين D_2 والأحماض الصفراء والهورمونات والتربينات.

ثم تناولنا الكاربوهيدرات في الفصل الخامس من حيث تعريفها ووجودها وتقسيمها، صيغ السكريات وتفاعلاتها وتراكيبها وأنواعها الحلقية والمحدودة والمتعددة، حيث شمل البحث النشا، والسليلوز، والأميلوز، والكلايكوجين، وغيرها، إضافة إلى السكريات المتعددة غير المتجانسة كالصموغ.

وتضمن الفصل السادس الأحماض الأمينية من حيث التعريف والتقسيم والفصل والتفاعلات المختلفة لها.

البروتينات وتركيبها وتقسيمها وأدوارها الوظيفية واستخلاصها وتنقيتها وغير ذلك من الأمور المتعلقة بها تم تضمينها في الفصل السابع.

أما الفصل الثامن والتاسع فقد تطرقنا فيهما إلى الأحماض النووية والانزيمات من حيث التقسيم والتركيب والتفاعلات.

نأمل أن يكون هذا الكتاب عوناً لطلبة الكيمياء الحياتية. ومن الله العلي القدير نستمد العون والتوفيق.

المؤلف

المحتويـــــــــات

الفصل الأول

الملامح العامة للكيمياء الحياتية وتطبيقاتها

1 - 1 تمهيد للكيمياء الحياتية

يبحث علم الكيمياء الحياتية في الصفات الكيميائية والفيزيائية لمكونات الخلية والمعالم العامة للأنظمة الحياتية التي تمارسها هذه المكونات، إضافة إلى ذلك فالكيمياء الحياتية تفسر بصورة دقيقة ماهية هذه النظم في الخلية.

قدمت الكيمياء الحياتية إلى الجنس البشري الكثير من الإنجازات، فقد ساعدت في توضيح عمل الادوية، وساهمت في تشخيص وعلاج الكثير من الامراض، وقدمت الطرق التي يمكن تطبيقها لقياس الكثير من المركبات الموجودة في الجسم الحي.

إن عمر الكيمياء الحياتية يتجاوز القرن من الزمن وله تخصصات مختلفة، بعضها يتعلق بدراسة التركيب الكيميائي للمواد التي تتكون منها الكائنات الحية النباتية وتسمى بالكيمياء الحياتية النباتية، والبعض الآخر يتعلق بالخلية الحيوانية ويسمى هذا الاختصاص هذا بالكيمياء الحياتية الحيوانية، وإذا كانت الخلية البشرية هي المقصودة سواء كانت طبيعية أم مرضية فيسمى الاختصاص بالكيمياء السريرية، ويتعلق التخصص المسمى بالكيمياء الحياتية المجهرية بالأحياء المجهرية وتكوينها الكيميائي. وقد توسعت الكيمياء الحياتية فأصبحت تشمل الكيمياء الحياتية الفيزيائية والكيمياء الحياتية العضوية والكيمياء الحياتية اللاعضوية وكذلك كيمياء التغذية، وأصبحت له تطبيقات مختلفة كالتي تتعلق بكيمياء الألبان والصناعات الغذائية، وساهم هذا العلم في صناعة الالبان والورق والانسجة والجلود .... الخ.

1 - 2 الملامح العامة لعلم الأحياء

يختص علم الاحياء بدراسة أشكال الحياة وصفاتها وقوانينها متضمنة الكائنات الحية ابتداء من الرواشح الابتدائية إلى الإنسان الذي يعتبر أرقى المخلوقات وأكثرها ذكاء.

تفرع هذا العلم إلى فروع عديدة ذات اختصاصات مختلفة منها علم الحيوان، وعلم النبات، وعلم الوراثة، وعلم الأجنة، وعلم المورفولوجيا، وعلم الفسلجة، وعلم الخلية، كما أن الكيمياء الحياتية قد تعتبر في راي البعض أحد فروع علم الاحياء وخاصة تلك المتعلقة بوظائف الخلية.

يعبر علم الأحياء عن المواد الحية بجميع أشكالها وظواهرها، وكذلك عن نشأة الحياة، وهل هي ذاتية أم من مواد غير حية. وقد لاحظ «انتوني فان يولنهوب» أن اكتشاف أعداد هائلة من المخلوقات الحية الدقيقة عند فحصه قطرة ماء بواسطة المجهر، أدى إلى أن يطرح «باستور» فكرة نشوء الحياة تحت الظروف الحالية في الكرة الارضية، وفي نهاية القرن التاسع عشر تم الاتفاق على أن الحياة تنشأ من كائن حي تحت هذه الظروف.

1 - 3 الملامح الكيميائية للكائنات الحية

كيمياء الحياة ونشأة الكيمياء الحياتية :

يعتبر القرن التاسع عشر بدء كيمياء الحياة والذي سمي بالكيمياء الحياتية حين توصل «ليبك» إلى التركيب الكيميائي للنباتات، وتمكن «فوهللر» من صنع اليوريا من سيانات الأمونيوم سنة 1828 والذي قضى على الفكرة السائدة في ذلك الحين بأن النواتج الحيوانية تصنع فقط بواسطة حيوية الكائنات، وتمكن «بخلر» من تحضير مستخلص خال من الخلية له القابلية على تخمر السكر وبدوره مهد الطريق إلى مفهوم عمل الإنزيمات.

بدأت الكيمياء الحياتية الحديثة بمساعدة الرواد أمثال «ستانلي» الذي درس التركيب الكيميائي للفيروس والمتمثل بالبروتينات النووية، و«لوب» الذي درس الصفات الغروية للبروتينات، وبحوث «مايوهوف» المتعلقة بحامض اللاكتيك الناتج من الفعاليات الحياتية والتي أدت إلى توضيح العلاقة بين التفاعلات الكيميائية والفعاليات الوظيفية.

البناء الكيميائي للخلايا :

يمكن متابعة البناء الكيميائي للخلايا من مستويات متعددة :

أ ـ العناصر المكونة للجزيئات الحياتية.

ب ـ الجزيئات الحياتية الصغيرة والعملاقة (العيانية).

أ ـ العناصر المكونة للجزيئات الحياتية : تدخل جميع العناصر الموجودة في الجدول

الـدوري لمـنـدلـيـف في تـركـيـب الـكـائن الحي حـيث يشكل كل من الكاربون والأوكسـجين والهيدروجين والنتروجين 96 % من العناصر الموجـودة في الخلية، بينما تبلغ نسـبـة كل من الكالسـيـوم والفـسـفـور والبوتاسيوم والكبريت 30%. ويشكل الحـديد والصوديوم والكلور 1% من هذه النسـبة، وهناك كميات ضئيلة جـداً من عناصر اليود والمغنيسيوم والنحاس والمنغنيز والكوبلت والبورون والزنك والفلور والمولبـيدنوم والسلنيوم.

ب ـ الجزيئات الحياتية الصغيرة والعملاقة :

تتكون بصورة رئيسية من ثلاثة أنواع :

1- المواد العضوية	8 - 25 %.
2- المواد غير العضوية	2 - 5 %.
3- الماء	70 - 90 %.

وتختلف الخلايا عن بعضها بصورة رئيسية كيميائياً وفق طبيعة وكمية المركبات الكيميائية، وطبيعة التفاعلات التي تطرأ بين محتوياتها، وسرعة تلك التفاعلات.

أما المواد العضوية الرئيسية للخلايا فتشمل :

أ – الكاربوهيدرات.

ب ـ الدهون.

ج ـ البروتينات.

د ـ الإنزيمات.

هـ ـ الفيتامينات.

و ـ الهورمونات.

1 - 4 تعريف وطبيعة الكيمياء الحياتية

يتضمن علم الكيمياء الحياتية دراسة التركيب الكيميائي للخلية الحية والتفاعلات التي تحـدث في داخلهـا، ويتـمـيـز بكونه مـركز اتصال كل من علم الأحياء والكيمياء والفـيـزياء وعلوم الطب، وعلى أثر هذه العـلاقـة ظهـرت علوم جـديدة مـثل الفـيـزياء الحياتية، وعلم الأحياء الجزيئي، وغيرها.

يقسم علم الكيمياء الحياتية إلى اختصاصات مختلفة تعتمد على طريقة التقسيم فمنها أسلوب الدراسة ونوع الكائن الحي وكذلك طبيعته.

1 - 4 - 1 أسلوب الدراسة :

1 ـ الكيمياء الحياتية الوصفية Descriptive Biochemistry : ويتضمن دراسة وصفية لمكونات الخلية الكيميائية.

2 ـ الكيمياء الحياتية الديناميكية Dynamic Biochenistry : وتعنى بدراسة التفاعلات الكيميائية التي تحدث في داخل الخلية الحية.

1 - 4 - 2 نوع الكائن الحي :

1 - **الكيمياء الحياتية النباتية** : تتضمن دراسة صفات المملكة النباتية كيميائياً كعملية التركيب الضوئي، والمحتوى الكيميائي للنباتات، والصفات الطاقية للتفاعلات التي تحدث في الخلية النباتية.

2 - **الكيمياء الحياتية الحيوانية** : يتضمن هذا الاختصاص المحتوى الكيميائي للخلية الحيوانية، وكذلك التفاعلات الكيميائية التي تحدث في هذا النوع من الخلايا.

3 - **الكيمياء الحياتية المجهرية** : تتميز الكيمياء الحياتية المجهرية بقدرتها على دراسة الكائنات البسيطة ذات الخلية الواحدة، وقد تم الاستفادة من ذلك في معرفة المحتوى الكيميائي لهذه الكائنات، والتفاعلات الكيميائية التي تحدث فيها، والمواد التي تفرزها، وبالتالي سهلت معرفة الطريقة التي تسبب بها البكتيريا المرضية المرض مثلاً وكذلك الفيروسات، إضافة إلى القدرة الكيميائية للعديد من الخمائر على إنتاج الكحولات.

4 - **الكيمياء الحياتية المقارنة** : تشمل العلاقات الكيميائية بين مختلف الاشكال الحياتية ذات الخلية بدائية النواة صعوداً إلى الخلية حقيقية النواة.

1 - 4 - 3 طبيعة الكائن الحي البشري :

الكيمياء الحياتية السريرية

وتمثل العلم التطبيقي للكيمياء الحياتية وتشمل : المتغيرات الكيميائية عند المرضى، وكذلك في الحالة الطبيعية.

1 - 5 الكيمياء الحياتية وعلم الكيمياء :

تهدف الكيمياء الحياتية كما ذكرنا إلى متابعة الخواص الكيميائية للمركبات العضوية واللاعضوية والتفاعلات التي تتعرض لها آخذين بنظر الاعتبار تطبيقات علم الكيمياء من النواحي العديدة التي يتميز بها، والفروع العديدة التي تعطي الشخصية المتميزة لهذا العلم.

استطاع العديد من الباحثين المختصين بفروع الكيمياء المتعددة التعرض إلى مركبات الخلية، ودراسة صفاتها الفيزيائية والتركيبية، والولوج إلى طبيعة التفاعلات الكيميائية التي تحدث في الخلية حسب طبيعة هذه الدراسات التي تتطلب بحوثاً عديدة ودراسات متميزة تتطرق إلى طبيعة الجزيئات والذرات من الناحية البنائية، وكذلك الأواصر التي تساهم في توصيف الجزيئات الحياتية الصغيرة منها والعيانية.

وعلى سبيل المثال، هناك مركبات عضوية ذات أهمية حياتية مثل الكحولات المثيلية منها التي تسبب العمى والموت، والاثيلية التي تتكون نتيجة تخمر السكر والذي سمي قديماً باسم كحول الحبوب والايسوبروبيك الذي يستعمل عادة للتدليك، والكليسرول الذي له أهمية غذائية وصناعية حيث يضاف أحياناً للأطعمة والتبغ ومستحضرات التجميل، أما الأحماض الكاربوكسيلية ومشتقاتها فهي مهمة جداً في الخلايا والعمليات الحياتية، وكذلك الهيدريد الحامض، والاستر، والأميدات، والأسترات الفينولية.

أما الأمينات فتأثيراتها متعددة منها وظيفية، وأخرى نفسية كالأدرينالين والنورادرينالين حيث تفرزهما قشرة الغدة الأدرينالية ويؤثران على نقل الاستجابات العصبية، ويعتبر الأمفيتامين منشطاً قوياً، ويسبب الميسكالين الهلوسة.

1 - 6 الكيمياء الحياتية السريرية

1 - 6 - 1 دور الكيمياء الحياتية في التحاليل المختبرية :

الأسس التي تعد بواسطتها طريقة التحليل المختبري :

تلعب طرق التحليل المختبري المعتمدة على الجانب التطبيقي للكيمياء الحياتية أدواراً مهمة في التقييم السريري لغرض تشخيص ومعالجة المرض بعد الحصول على معلومات متنوعة تتميز بما يلي :

أ ـ يجب أن تكون المعلومات دقيقة.

ب ـ وأن يكون الوقت الذي يستغرق للحصول على هذه المعلومات قصيراً.

ج ـ وبأقل كلفة ممكنة.

والحصول على هذه النتائج وبهذه المواصفات يتطلب تعاوناً مستمراً بين أعضاء فريق الاعتناء بالصحة المتشكل من الطبيب والمريض والفني في المختبر والممرضة أو الممرض، وذلك للتخطيط وفق حالة وتعاون المريض، ولإجراء التجارب المختبرية التي تتضمن الإجابة على الاستفسارات التالية :

أ ـ نوع الاختبار الذي يجري على المريض والطريقة التي يخطط لاستعمالها.

ب ـ التحضيرات المختبرية المطلوبة.

ج ـ الدور الذي يقيم به المريض.

د ـ تقييم النتائج.

1 - 6 - 2 التحاليل المختبرية :

تجري معظم التحاليل الكيميائية الكمية على عينات الدم ويليها البول والنسبة الأقل تجري على الغائط، أما السوائل الأخرى التي تستعمل في بعض الأوقات لإجراء الاختبارات الكيميائية فتشمل :

أ ـ السائل النخاعي الشوكي.

ب ـ السائل المعوي.

ج ـ إفرازات الاثني عشر.

د ـ اللعاب.

هـ ـ العرق.

و ـ الحصاة.

ز ـ عينات الغذاء.

ح ـ الخزع (المكونات الخلوية).

ليس هناك طريقة مُثلى لإجراء التحليلات الكيميائية، إلا أنه يمكن التاكيد على اتباع بعض الإرشادات التي يجب أن تتوفر في كل مختبر للطرق التي يمكن تطبيقها عند جمع العينات وتهيئتها للتحليل عندما يتطلب الامر الحصول على نتائج موثوق بها، فالعينات التي يتم جمعها تحت الظروف غير المناسبة تؤدي إلى نتائج غير دقيقة.

1- 6 - 3 العينات وتشخيص المرضى :

من الضروري أخذ العينات المناسبة من المريض المراد تشخيص حالته بحيث يكون العمل المختبري معتمداً على :

أ ـ الطريقة المستعملة لتشخيص كل مريض وبصورة متميزة ومتكررة.

ب ـ تكملة جميع المستلزمات الخاصة بإحالة الطبيب وبما يتطلبه الامر لتشخيص المريض.

ج ـ جمع العينات المناسبة.

د ـ تشخيص العينات وربط كل واحدة منها بما يحتاجه الطبيب.

جمع وحفظ العينات :

هناك العديد من العوامل التي تتعلق بجمع العينات والتي تؤثر على دقة وتغيير النتائج التي تم الحصول عليها، فمن الأخطاء الشائعة الحصول على عينة خاطئة من المرضى نتيجة التشخيص غير الصحيح.

ومن الضروري تطبيق طريقة قياسية لجمع العينات تتضمن من الناحية المثالية جمعها من المرضى الذين صاموا خلال الليل واضطجعوا لمدة لا تقل عن 20 دقيقة

قبل أخذ العينة، بشرط أن يتم الحصول عليها بأقل ركود وريدي ممكن، علماً بأن هذه الظروف المثالية يمكن الحصول عليها في المستشفى، وعندما يتغير الموقف من الاضطجاع إلى الوقوف تحصل زيادة قد تبلغ 10 - 15 % من التركيز.

1 - 6 - 4 الحالات المرضية المرتبطة بارتفاع مكونات الدم عن مستواها الطبيعي:

المكـــون	الحالة المرضية
الأميليز	التهاب البنكرياس الحاد.
بيليروبن	اليرقان.
الكالسيوم	أ ـ فرط (الزيادة) في جنب الدرقية.
	ب ـ أورام العظام الاجتياحية :
	1- اللحمانية. 2- لين الحبل الشوكي.
	الانخفاض :
	ج ـ الكزاز (التكزز) الطفولي.
	د ـ استئصال الغدة جنبية الدرقية.
	هـ ـ قصور الوظيفة الكلوية.
	و ـ الأمراض البطنية.
الكلوريد	ترتبط بمستوى الصوديوم.
الكولسيترول	أ ـ الانسداد الصفراوي.
	ب ـ أعراض الفساد الكلوي.
	ج ـ مرض السكر.
	د ـ الحمل.
	هـ ـ المكسيديما.
قوة الاتحاد بثاني أوكسيد الكربون	أ ـ القلاء.
	ب ـ ضيق البواب.
	ج ـ نقص البوتاسيوم.
	د ـ الحماض التنفسي.

	الانخفاض :
	أ ـ الجوع. ب ـ الحماض.
كرياتينين	القصور الكلوي.
فوسفاتيز قاعدي	أ ـ أمراض العظام.
	ب ـ اليرقان الانسدادي.
فوسفاتيز حامضي	سرطان البروستات.
فوسفات	القصور الكلوي.
	الانخفاض :
	الكساح.

المصـــادر

1 ـ الكيـمـيـاء الحـياتية ـ تأليف الدكتور رياض رشيد سليمان والدكتور سامي عبد المهدي المظفر ـ مطبعة اشبيلية بغداد ـ 1985.

2 ـ الكيمياء الحياتية ـ تأليف الدكتور سامي عبد المهدي المظفر ـ تصميم مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر ـ طبع في فرنسا.

3- Micro - analysis in medical Biochemistry, Fourth Edition, Arabic Translation Wootton 1985.

4- Gell Biology, Structure, Biochemistry and Function, Second Edition. Philip Sheeler, Donald E. Bianchi, John Wiley & Sons, Inc., 1983.

5- The Chemical basis of life, George H. Schmid, Ph. D., Little, Brown and Co. Boston, 1982.

6- Biochemistry, Geoffrey Zubay, Macmillan Publishing Company, Second edition, 1988.

الفصل الثاني

الجزيئات والحياة

2 - 1 الجزيئات الحياتية التي تبني الكائن الحي

يحتوي الحيز الخلوي على السائل المائي الذي يتضمن مختلف الايونات والمركبات ذات الأوزان الجزيئية الصغيرة والمتوسطة والعيانية، ومن غير الممكن قياس التركيب الايوني في كل عضية خلوية، حيث أن كل واحدة منها ذات تراكيب أيونية مختلفة.

يعتبر أيون الصوديوم +Na الايون الرئيسي الخارج خلوي الذي يبلغ تركيزه 140 ملي مكافىء / للتر، كما يوجد هذا الأيون الموجب في السوائل الخلوية الداخلية، ويعتبر البوتاسيوم +K الايون الموجب الخلوي الداخلي، كما يوجد أيون المغنيسيوم Mg^{+2} في كل الحيزات الخلوية والخارج خلوية وبتراكيز أقل من الصوديوم والبوتاسيوم، ويعتبر الكلوريد (CL^-) الايون السالب الرئيسي خارج الخلية مع أيونات كاربونات الهيدروجين (HCO_3^-) وكميات قليلة من الفوسفات والسلفات، كما أن البروتينات تحمل شحنة سالبة عند الأس الهيدروجيني 7,4 في السوائل النسيجية.

تحتوي جميع الخلايا الحية على المكونات الكيميائية المختلفة فمنها الماء الذي يشكل 70 - 90 %، والايونات اللاعضوية (2 - 5%) مثل : الصوديوم والبوتاسيوم والكلورايد والسلفات والكاربونات والمغنيسيوم، وكذلك الجزيئات الحياتية الصغيرة والمتوسطة والعيانية التي تشكل 8 - 25 % .

تم إثبات أن جميع العناصر الموجودة في الجدول الدوري لمندليف تدخل في تركيب الكائن الحي حيث تقسم إلى العناصر الصغيرة، ويشكل كل من الكربون والأوكسجين والهيدروجين والنتروجين نسبة 96% من العناصر الموجودة في الخلية، بينما يوجد كل من الكالسيوم والفسفور بنسبة 3%، وكل من البوتاسيوم والكبريت والحديد والصوديوم والكلور نسبة 1%، وهناك كميات ضئيلة جداً من عناصر اليود والمغنيسيوم والنحاس والمنغنيز والكوبلت والبورون والزنك والفلور والموليبدنوم والسلينيوم.

يتركز الجانب الكيميائي في الجزيئات الحياتية حول الكاربون الذي يشكل حوالي 50% من وزنها. وتتصف الجزيئات الحياتية بأواصر منفردة تساهمية أربع منها متصلة بذرة الكاربون وتترتب بزوايا خاصة تبلغ 109,5 بين ذرتي الكاربون تختلف قيمتها من ذرة كاربون إلى أخرى في مختلف الجزيئات الحياتية، وبسبب ذلك هناك

انواع مختلفة من التراكيب البنائية ذات الأبعاد الثلاثية، وتساهم هذه التراكيب في توضيح التعقيد الذي يتسم به التركيب الخلوي وخاصة فيما يتعلق باحجامها المختلفة وكذلك أشكالها. إضافة إلى ذلك تتصف المركبات العضوية الممثلة للجزيئات الحياتية بحرية الدوران الكاملة حول الآصرة المنفردة، إلاّ إذا توفرت مجاميع ذات شحنة تتصل بذرتي الكاربون، حيث تعيق الدوران.

يؤكد التركيب رباعي السطوح للأواصر المنفردة حول ذرة الكربون الصفات القديمة جداً للجزيئات العضوية، وبوجود مجاميع مختلفة أو ذرات مختلفة متصلة بذرة الكاربون تصبح الاخيرة غير متناظرة (وهي الذرة الكاربونية المرتبطة تساهمياً مع أربع مجاميع مختلفة) ومكونة متناظرات تسمى بالمتناظرات المرآوية (وهي متناظرات تكون كل واحدة منها عبارة عن صورة مرآة للأخرى) ذات ترتيب متماثل في الفضاء. وتسمى المتناظرات المرآوية بالمتناظرات الضوئية ذات التشابه الكيمياوي بالنسبة للتفاعلات التي تقوم بها، إلاّ أنها تختلف في الصفات الفيزيائية المتمثلة بدوران الضوء المستقطب.

إضافة إلى ذلك يستطيع كل من الهايدروجين والأوكسجين والنتروجين تكوين الأواصر التساهمية التي تتكون حسب ما ذكرنا عن طريق مشاركة الأزواج الالكترونية، حيث وعلى سبيل المثال تستطيع ذرتان ذات الكترونات غير مزدوجة في المدارات الزوجية تكوين أواصر هذا النوع وذلك بملء المدارات الزوجية لهذه الذرات، فعدد الالكترونات غير المزدوجة لذرات الهايدروجين والأوكسجين والنتروجين والكاربوت 1، 2، 3، 4 وحسب التعاقب، حيث تحتاج ذرة الهيدروجين إلى الكترون واحد، والأوكسجين إلى الكترونين، والنتروجين إلى ثلاثة الكترونات، والكاربون إلى أربعة الكترونات لملء المدارات الخاصة بكل ذرة.

أما في الكائنات الحية فلذرات الكاربون القدرة على مشاركة الأزواج الالكترونية بينها في تكوين أواصر منفردة (كاربون ـ كاربون) مستقرة جداً، وعليه تستطيع ذرات الكاربون أن ترتبط مع بعضها تساهمياً لتكوين أنواع مختلفة من المركبات ذات السلاسل المحيطة والسلاسل المتفرعة وكذلك الدائرية مشكلة الهيكل البنائي للعديد من الجزيئات الحياتية ذات المركبات العضوية.

من أكثر العناصر انتشاراً هو الأوكسجين ويشكل نصف مادة القشرة الأرضية وثلثي مكونات الانسجة النباتية والحيوانية، ويشترك مع الهيدروجين ليكون الماء، وفي عملية التنفس يلعب الدور الرئيسي، بينما يعتبر الهيدروجين أحد العناصر الرئيسية الأولية للحياة فهو موجود في الكائنات الحية وخاصة الماء، أما الهيدروجين الجزيئي فغير موجود في دورة حياة الكائنات الحية إلا أنه موجود في المجرى المعوي كناتج للعمليات الحياتية للسللوز.

2 - 2 بناء المعقدات الكبيرة

البروتينات :

وهي من أهم المواد المكونة للخلية، تتكون من الأحماض الامينية بترتيبات وبنسب مختلفة مكونة أشكالاً لا حصر لها.

تعتبر البروتينات من المركبات العضوية النتروجينية معقدة التركيب تتكون أساساً من عناصر الكربون والهيدروجين والأوكسجين والنتروجين وكذلك الكبريت، وبعضها يدخل في تركيبة عناصر الفوسفور وبعض عناصر الفلزات مثل الحديد والنحاس. ويشكل الكربون حوالي 50% منها بينما الهيدروجين 7% والأوكسجين 23% والنتروجين 16%، وقليل منها تحتوي على الكبريت، وقسم آخر على الفسفور بنسبة 3%.

تختلف البرتينات في خواصها الطبيعية والكيميائية بالنسبة إلى نوعية وكمية وتعاقب الأحماض الأمينية التي تحتويها.

إن أهم الأواصر الموجودة في البروتينات تتضمن الأواصر الببتدية التي تحدث بين مجموعة الأمين ومجموعة الكاربوكسيل، وكذلك الأواصر الايونية والأواصر الهيدروجينية، وأواصر قوى فان درفال. تقسم البروتينات إلى بروتينات بسيطة ومعقدة ومشتقة، فالبسيطة منها ليفية تعمل على شكل دعامة أو هيكل للجسم ولها قابلية مطاطية تشمل الميوسين واللاكتين والكولاجين، وفي الحرير توجد بروتينات مثل السيريسين وبروتينات الشعر والأظافر والصوف والريش والحوافر ... الخ، كما أن

هناك البروتينات الكروية التي تعتبر بسيطة ومنها الالبومينات والكلوبيلينات والهنستونات والبروتامينات.

وهناك البروتينات المعقدة التي تتحد فيها البروتينات مع مركبات أخرى تدعى المجاميع المرتبطة مثل البروتينات النووية، والسكرية، والملونة، والدهنية، والفسفورية.

2 - 3 نماذج من الخلايا الحية

«قام شوان Theodor Schwann» بدراسة تركيب الخلية، وأوضح في عام 1839 بأن هذا التركيب يعتبر من صفات جميع الكائنات الحية. وكان «شلايدن» قد أثبت في نفس الوقت أن جسم النبات يتكون من عدد من الخلايا، وأن الخلية تنشأ من انقسام الخلية التي قبلها، وأنها عبارة عن مادة حية معقدة التركيب منظمة بدرجة كبيرة تحدث فيها الكثير من العمليات الحياتية للدهون والبروتينات والكاربوهيدرات. وتؤدي كل خلية وظيفة معينة محددة، فمثلاً تقوم الخلايا في الغدد بإفراز المواد المختلفة، وخلايا العضلات بالانقباض، ... الخ.

تختلف الخلايا في أشكالها، فهناك الخلايا الكروية، والخلايا النجمية، والخلايا ذات الزوائد، والخلايا ذات الأهداب، وقد أدى هذا الاختلاف إلى قيام هذه الخلايا بوظائف مختلفة، حيث تتمثل الأشكال الكروية للخلية في خلايا البويضات والخلايا الدهنية، والأشكال النجمية في خلايا النسيج الضام، والخلايا ذات الزوائد في الخلايا العصبية، والخلايا ذات الأهداب في خلايا النسيج الطلائي المبطن لجدار الامعاء، وهناك خلايا تغير من شكلها تعرف بالخلايا الأميبية مثل كريات الدم.

يتراوح حجم معظم الخلايا بين 10 - 100 مايكرون، وهناك بعض الخلايا التي يمكن رؤيتها بالعين المجردة، ويتراوح طول الخلايا العملاقية الموجودة في الطحالب عدة سنتمترات.

2 - 4 وظائف حجيرات الخلية حقيقية النواة

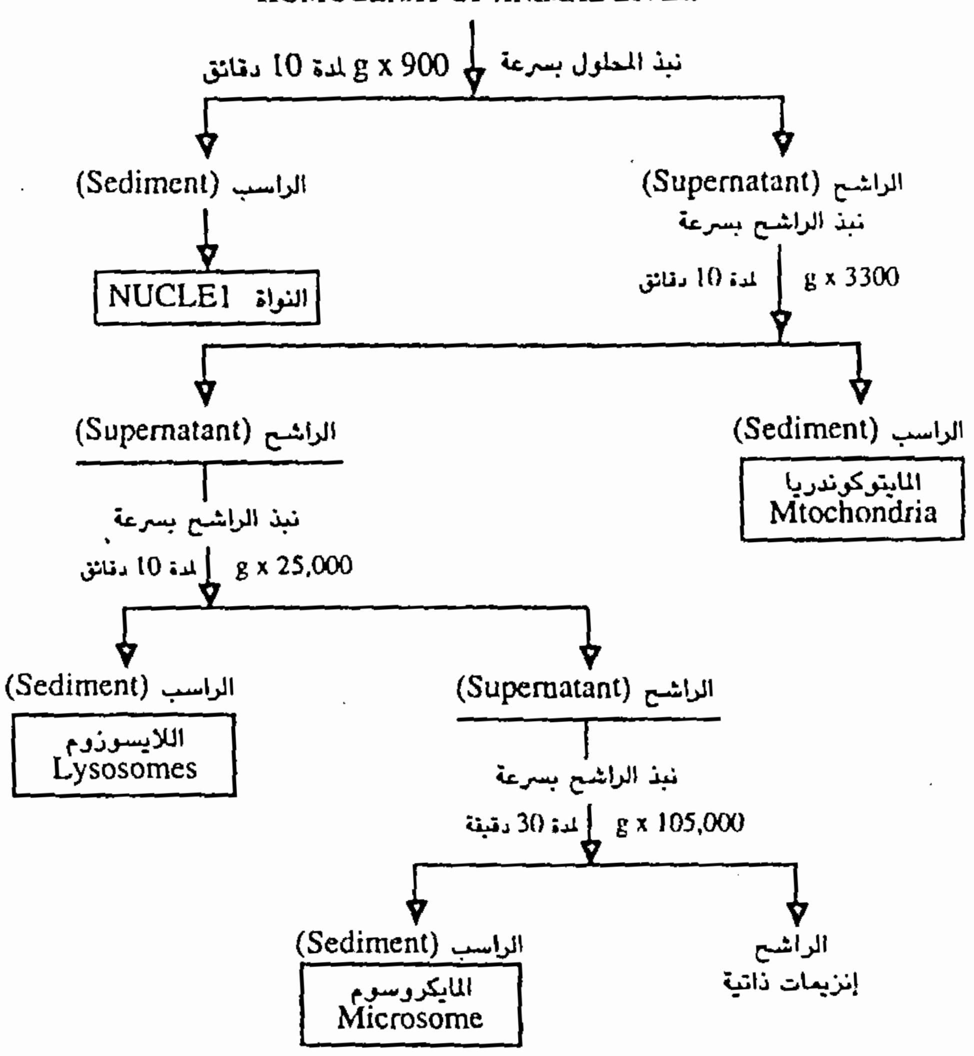
1 - الغشاء البلازمي Plasma - membrane		- انتقال الأيونات والجزيئات. - التعرف على تشخيص المواد المنظمة. - وجود المستلمات للجزيئات الصغيرة والكبيرة. - السيطرة على شكل وحركة الخلية.
2 - النواة	Nucleus	- البناء الحياتي للـ د. ن. أ وترميمه. - البناء للـ ر. ن. أ .
3 - النوية	Nucleolus	- البناء الحياتي للرايبوسوم.
4 - الشبكة الاندوبلازمية endoplasmic reticulum		- البناء الحياتي لمركبات الغشاء الخلوي. - البناء الحياتي للبروتينات والدهنيات المكونة لأجزاء الخلية. - تفاعلات إزالة السمية.
5 - المايتوكوندريا Mitochondria		- حفظ الطاقة. - القيام بالتنفس الخلوي. - أكسدة الكربوهيدرات والدهنيات. - تكوين اليوريا والهيم. - السيطرة على الكالسيوم.
6 - جهاز كولجي Golgi apparatus		- يقوم بتحوير البروتينات للالتحام في الحجيرات الخلوية ودفع البروتينات خارج الخلية.

7 - اللايسوسوم Lysosome	- يقوم بالهضم الخلوي. - التحلل المائي للبروتينات والكاربوهيدرات والدهنيات والاحماض النووية.
8 - البيروكسومات Peroxisomes	- مسؤولة عن تفاعلات الاكسدة التي تشمل الأوكسجين الجزيئي.
9 - الانابيب المجهرية والشعيرات المجهرية microtuubules and microfilaments	- تساهم في الهيكل الخلوي والشكل الخلوي. - مسؤولة عن الحركة الخلوية الداخلية. - تساهم في العلميات الحياتية للكاربوهيدرات والدهنيات والأحماض الامينية والنكليوتايدات والبناء الحياتي للبروتينات.
10 - السايتوسول Cytosol	- يساهم في العمليات الحياتية للكاربوهيدرات والدهنيات والأحماض الأمينية والنكليوتايدات والبناء الحياتي للبروتينات.

تجزئة مكونات الخلية الحيوانية بواسطة النابذة

Fractionation of Animal Cell by the Centrifuge

تستعمل آلة الطرد المركزي (النابذة) لتجزئة مكونات الخلية وفصلها عن بعضها بسرع مختلفة اعتماداً على الاختلاف في ثقلها، ولغرض إجراء عملية الفصل هذه يؤخذ كبد الحيوان مثلاً ويقطع إلى قطع صغيرة ويوضع في محلول السكروز وتجري عليه عملية التجانس Homogenization بجهاز المتجنس Homogenizer .



2 - 5 أنواع الخلايا ودورها في الكيمياء الحياتية الجزيئية

تعتبر الفيروسات والمايكوبلازما والخلايا بدائية النواة مثل الاي كولاي، والباسلسن السابتيلس، وغيرهما نماذج مفيدة للدراسات الكيميائية الحياتية الجزيئية، وقد قدمت الحلول الكثيرة للعديد من المعضلات في هذا العلم، كما أن الخلايا حقيقية

النواة كالخمائر والخلايا الثدية فهي أيضاً تلعب دوراً مهمًا في تطبيقات علم الحياة الجزيئي والكيمياء الحياتية.

2 - 5 - 1 الفيروسات Viruses

مخلوقات غير حية لها القابلية على إصابة الخلايا النباتية والحيوانية والبكتيريا وتتصف بصغر حجمها مقارنة بحجم البكتيريا وكريات الدم الحمراء.

تعتمد الفيروسات على مضيفها حيث لا تقدر على القيام بالعمليات الحياتية المستقلة نظراً لعدم احتوائها على الرايبوسومات، بينما هناك بعض الفيروسات التي تسمى الفهقرية Retroviruses تحتوي على إنزيم الناسخ العاكس.

من الناحية التركيبية يحتوي الفايروس على جزيئين :

1 - الحامض النووي.

2 - الغطاء البروتيني.

أما الفيرويدات Viroids فهي أقل تطوراً من الفيروسات من الناحية التركيبية، لا تحتوي على البروتينات بل على الحامض النووي الرايبوزي وهي تصيب البروتينات (النباتات) مثل نبات البطاطا والباميا، والحمضيات مثل البرتقال وتسبب خسارة اقتصادية.

2 - 5 - 2 المايكوبلازما Mycoplasma

وهي أصغر المخلوقات الحية القادرة على النمو والتكاثر داخل خلايا المضيف مثل خلايا حقيقية النواة للخلايا الثدية. تحاط خلية المايكوبلازما بواسطة الغشاء البلازمي وهي تختلف عن الخلية عدم النواة في عدم احتوائها على جدار الخلية، كما أنها تختلف عن الخلايا النباتية.

تتطفل المايكوبلازما خلايا الحيوان والنبات والحشرات وتفتقر هذه الأنواع من المخلوقات إلى قدرة العمليات الحياتية، كما تعتمد على خلايا المضيف في ذلك.

تحتوي المايكوبلازما على الحامض النووي الرايبوزي بالاضافة إلى الحامض الديوكسي رايبوزي وعلى الرايبوزومات وبعض الإنزيمات.

للمايكوبلازما صفات مهمة يستفاد منها لاستعمالها كنموذج دراسي، فهي تحتوي على غشـاء بلازمي يشـابه تركـيب الخلية حقيقية النواة في كثير من الصفات، كما أن خلية المايكوبـلازما حساسـة للتحـلل بواسطـة التنافـذ نظراً لعدم احتوائها على جدار خلوي.

2 - 5 - 3 البكتيريا (لاي كولاي)

خلية عديمة النواة تعتبر نموذجاً حقيقياً كاداة اساسية في دراسات كثيرة وخاصة وراثة البكتيريا، وتسـتوطن في القناة الهضمية للإنسان والحيوان، وتحاط بجدار صلب يحتوي على 50% بروتين و 50% دهون وعلى الغشاء البلازمي الداخلي لخلايا حقيقية النواة، إضـافـة إلى ذلك يتصف جدار الخلية البكتيرية بتعقده واحتوائه على السكريات الدهنية وعدد من البروتينات، كما يتواجد في داخل الخلية الأجزاء التالية :

1 - السايتوبلازم.

2 - الرايبوزومات.

3 - التركيب النووي.

تستوطن البكتيريا في القناة الهضمية للإنسان والحيوان على السواء وهي بكتريا عضوية سالبة لصبغة كرام، يبلغ متوسط طولها 2 مايكرون وعرضها 0.8 مايكرون.

يتصف جدار الخلية البكتيرية بتعقده واحتوائه على السكريات الدهنية Lipopoly-saccharide، وعـدد من البروتينات الرئيـسية، وطبقة الكلايكين الببتيدي Peptidogly-can المكونة لصلابة جدار الخلية.

تعـتبر هذه البكتيريا وحـيدة المجـمـوعـة الكروموسومية، تتصف باحتوائها على كروموسوم دائري وحيد، ويتركز الحامض النووي للاشرشيا كولاي في مناطق تعرف بالنيوكلويدات Nacleiods.

وهناك تراكـيب بروتينية معقدة التركيب الداخلي وظيفتها بناء البروتينات. تحتوي الخلية بطيئة النمو على 5000 رايبوزومة، اما الاجسام الوسطية Mesosomes في الاي كـولاي فـهي تراكـيب غـشائية مطوية من غشاء الخلية الداخلي تمثل مراكز العمليات الحياتية، ومركز تضاعف في الاحماض النووية الدوكسي رايبوزومية.

تمتد من السطح الخارجي للاي كولاي الأجزاء التالية :

أ – الاهداب الجنسية Sex pili

ب– التراكيب الخيطية Fimbriae

الأهداب، امتدادات بروتينية 8 نانومتر قطراً أقل تحدباً من الأسواط، وتتصف الاهداب الجنسية بالقدرة على ارتباطها ببعض العاثيات الحاوية على الحامض النووي الرايبوزي المفرد.

تتكون الأهداب الجنسية من بروتين البلين ويعتقد أن بروتين البلين يحتوي على وجهين للتفاعل. تتألف التراكيب الخيطية من بروتين متعدد الوحدات وتؤدي عملاً وظيفياً في التصاق البكتيريا في خلايا حقيقية النواة في بطانة القناة الهضمية.

المصـــادر

1 - الكيمياء الفيزيائية الحياتية وتطبيقاتها في علم الكيمياء الحياتية وفي علم الأحياء الجزيئي. ترجمة الدكتور سامي المظفر – الطبعة الأولى 1405 هـ ـ 1984 م.

2 - Physical Biochemistry, Applications to Biochemistry and Molecular Biology, David Freifelder, W. H. Freeman and Company.

3 - Cell Biology, Structure Biochemistry, and Function, Second Edition. Philip Sheeler, Donald E. Blanchi, John Wiley & Sons, Inc.

4 - الكيمياء الحيوية – تاليف الدكتور عبد الرحمن أحمد – الطبعة الثالثة – 1984 – دار القلم – الكويت – شارع السور.

5 - تركيب ووظائف الخلايا ـ تاليف كولين هويكنز – ترجمة الدكتور أحمد سعيد المرسي – 1981 – الطبعة العربية 1981.

6 - Structure and Function of cells, colin R. Hopkins 1981, Holt Saunders Limited.

7 - Biochemistry, Geoffrey Zubay, Macmillan Publishing Company, Second edition, 1988.

الفصل الثالث

الماء والمحاليل

3 - 1 خصائص الماء

الماء وأهميته :

يعتبر الماء من أكثر المكونات الخلوية وفرة، ويعمل كمحيط مناسب للمركبات الموجودة في الخلية، ويلعب دوراً رئيسياً في ارتباط خلايا الكائنات الحية، ويتصرف كمذيب رئيسي للبروتينات والسكريات، وتقرر الأواصر الهيدروجينية أغلب فعالياته الحياتية، ويشكل حوالي 70% من الوزن الكلي لجميع الكائنات الحية، اما في جسم الإنسان فيكون 45 - 60% من وزنه. والماء موجود بصورة متوازنة بحالتين :

أ ـ الماء المرتبط.

ب ـ الماء الحر.

يستعمل الماء الحر لنقل كافة الأملاح والايونات، أما الماء المرتبط فيتصل بأنواع من المركبات الحياتية كالبروتينات والأحماض النووية.

يقوم الماء بوظائف عديدة تتضمن :

1 - التنظيم الحراري للجسم.

2 - نقل العديد من المكونات الغذائية.

3 - اتصاف الماء بالفعالية التأينية.

ويصبح له تركيب قطبي كهربائي؛ لذا يستفاد منه كمذيب تعتمد عليه الكثير من فعاليات الجسم الكيميائية والفيزيائية.

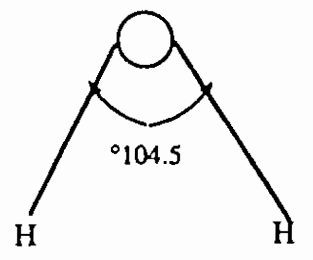
صفات الماء الهامة :

للماء عدد من الصفات الفيزيائية تعود لخواصه القطبية تتضمن : درجة غليان عالية، وحرارة كامنة للتبخر مرتفعة، حيث تميل ذرة الأوكسجين لسحب الالكترونات من ذرتي الهيدروجين تاركة شحنة موجبة حول البروتونات، ونتيجة لذلك تتصرف جزيئات الماء كجزيئات لها قطبين، أحدهما سالب جهة الأوكسجين، والآخر موجب جهة الهيدروجين.

إن ارتفـاع درجـة غليـان الماء، وارتفـاع درجـة انصـهـار الثلج، وارتفاع الحرارة الكامنة يفسر وجـود روابط هيدروجينية بين جزيئات الماء، إلاّ أن هذه الرابطة ضعيفة تقـدر بحوالي 4.5 كـيلو كـالوري/الجـزيئة، وتقـدر الطاقة اللازمة لتكسير كل رابطة هيدروجينية (4 - 10) كيلو كالوري/الجزيئة.

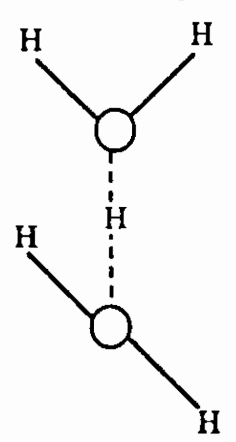
التركيب البنائي للماء :

تقـدر الزاوية للآصرة بين الأوكسجين وذرتي الهيدروجين بـ 104.5 (H - O - H). علمًا بأن ذرتي الهيـدروجين تحـملان شحنة موجبة جزئياً، ويحمل الأوكسجين شحنة سالبة جزئية محدثاً بذلك حالة ثنائية الأقطاب :



وترتبط ذرات الهيـدروجين ذات الشـحنة الموجبة في جزيئة الماء بذرة الأوكسجين ذات الشحنة السالبة بجزيئة الماء الأخرى مكونة بذلك آصرة ضعيفة بينهما.

أ ـ الآصرة الهيدروجينية وكما موضح بالخطوط المقطعة بين جزيئتين من الماء :

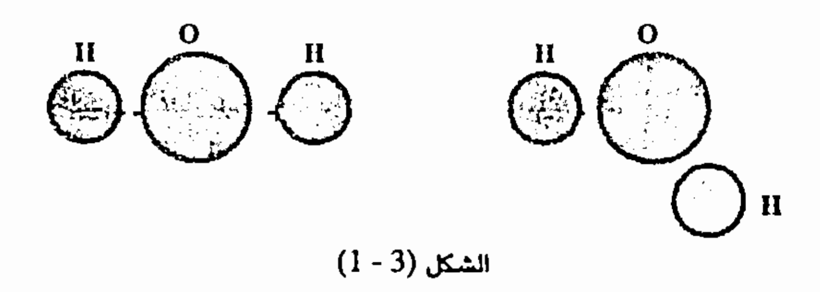


يتـضح من أعـلاه أن ذرة الأوكـسـجين ربما ترتبط بأربع من ذرات الهيدروجين

مكونة بذلك شكلاً رباعي السطوح يحيط بالأوكسجين (الشكل 3 - 1)، وأن الآصرة الهيدروجينية التي تتكون حول ذرة الأوكسجين بين جزيئات الماء في الحالة السائلة (الشكل 3 - 2)، تكون مسؤولة جزئياً عن ارتفاع حرارة التبخر للماء وكذلك الشد السطحي.

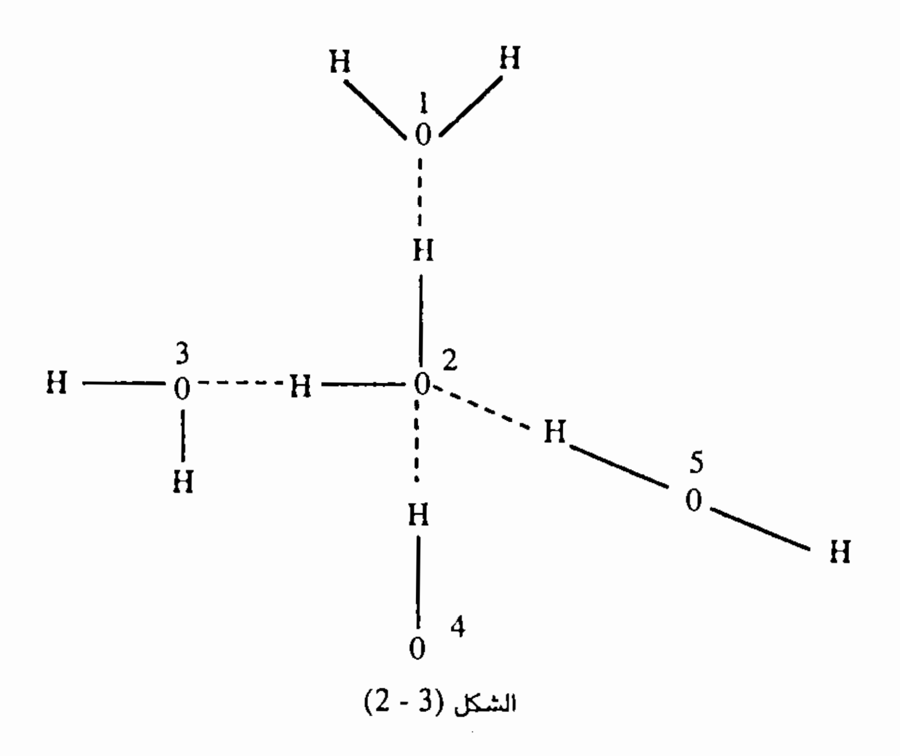
يتصف الماء في الحالة الصلبة بكون تركيبه البنائي بشكل رباعي السطوح يتميز بأن آصرته الهيدروجينية تساهم في تركيبه البلوري، ويتكسر بعض من هذه الأواصر عند تحول الثلج إلى الماء. ومن المعروف أن كل آصرة هيدروجينية تكون ضعيفة نسبياً، إلاّ أن وجود أعداد كبيرة من الأواصر الهيدروجينية بين الماء السائل تساهم في ثبوتية الماء وحتى في درجة حرارة 100 مئوية، إضافة إلى ذلك يستطيع الماء أن يتآصر هيدروجينياً إلى مختلف التراكيب البنائية الكيميائية عند توفر الأوكسجين أو النتروجين ذي السالبية الكهربائية (الشكل 3 - 1).

تقوم الأيونات بالانجذاب نحو جزيئات الماء، وبالتالي تتمزق شبكية الماء ويتم فيها ترتيب جزيئات الماء نفسها حول الأيون الموجب. وتكون جزيئات الماء كرات أمامه في داخلها أيونات سالبة أو موجبة، وبسبب عدم القدرة على تكوين كرات أمامه حول مجاميعها الأيونية، فإن العديد من الجزيئات الكبيرة مثل البروتينات لا تذوب في الماء.



الشكل (3 - 1)

ب ـ الآصرة الهيدروجينية في الشكل رباعي السطوح لخمسة جزيئات من الماء، حيث تكون الجزيئات 1، 2، 3، في مستوى الصفحة و 4 أسفلها و 5 فوقها :



الشكل (3 - 2)

تفكك الماء Dissociation of Water

يمكن أن تتفكك جزئية الماء بدرجة ضعيفة جداً، ويتضح ذلك من دراسة التوصيل الكهربائي لها ووفق ما يلي :

$$HOH \rightleftharpoons H^+ + OH$$

حيث يلتحم فيها البروتون مع الأوكسجين مكوناً ما يسمى بأيون الهيدرونيوم (H_3O^+) في درجة حرارة 25 م، وتكون قيمة الـ Keq صغيرة جداً بـ (1.8×10^{-16}).

ثوابت التوازن Equilibrium constants

من المعروف أن هناك العديد من التفاعلات ذات اتجاه عكسي، ولا تتجه نحو التكامل بل تصل إلى التوازن. ففي التوازن تكون محصلة السرعة صفراً لأن السرعة المطلقة بالاتجاه الأمامي تساوي بالضبط السرعة المطلقة بالاتجاه العكسي، وأن موقع التوازن يوضح بواسطة ثابت التوازن "equilibrium constant" (Keq). فمثلاً لو أخذنا بنظر الاعتبار حامضاً ضعيفاً مثل :

$$HA \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} H^+ + A^-$$

فالسرعة الأمامية تتناسب طردياً مع تركيز HA :

أو : $$Vf \alpha \ (HA)$$

$$Vf = K_1 \ (HA)$$

حيث K_1 = الثـابت التناسبي (proportionnality constant) يســمى بثابت معدل السرعـة وبالأخص ثابت مـعدل سرعة الرتبة الأولى لأن V_f يتناسب مع تركـيز مادة منفردة مرفوعة إلى القوة واحد.

أما السرعة العكسية V_r فـتتناسب مع تركيز A^- وH^+ لذا، وبالتـالي مع تراكيز النواتج (المنتوج) لتراكيز كل من A^- و H^+ :

$$V_r \ \alpha \ [H^+] \quad و \quad V_r \ \alpha \ [A^-]$$

$$V_r \ \alpha \ (H^+) \ (A^-)$$

و $$V_r = K - 1 \ (H^+) \ (A^-)$$

حيث K_{-1} ثابت معدل سرعة الرتبة الثانية، لذا فمضاعفة (H^+) تؤدي إلى مضاعفة V_r وكذلك مضاعفة (A^-) تؤدي إلى الحصول على ضعف السرعة V_r، أما عند مضاعفة كل من (H^+) و (A^-) فتزيد V_r أربع مرات. ففي التوازن :

$$V_f = V_r$$

أو $$K_1 \ (HA) = K_{-1} \ (H^+) \ (A^-)$$

أو $$K_{-1} = \frac{(H^+) \ (A^-)}{(HA)}$$

وأن نسبة $\frac{K_1}{K_{-1}}$ نفسها ثابتة وتعرف بـ Keq :

$$Keq = \frac{(H^+) \ (A^-)}{(HA)}$$

ففي هذه الحالة الخاصة، فإن Keq عبارة عن ثابت تفكك الحامض ويسمى بـ Ka.

وعندما يكون التفاعل

$$A + B \underset{K_{-1}}{\overset{K_1}{\rightleftharpoons}} 2C$$

لذا

$$Vf = K_1 \ (A) \ (B)$$

$$Vr = K_{-1} \ (C) \ (C_2)$$

$$= K_{-1} \ (C)^2$$

و

$$Keq = \frac{(C)^2}{(A) \ (B)}$$

وإن أبعاد Keq تعتمد على عدد مكونات النظام التفاعلي.

وإن تراكيز مكونات التفاعل لا يعمل بها بل نشاطاتها (activities) إذ التراكيز الظاهرية أو المؤثرة. وعادة يفترض أن r = 1 أي إن النشاط مكافئ إلى التركيز المولاري. وإن هذه الفرضية مقبولة للمحاليل المائية المخففة للأيونات أحادية وثنائية التكافؤ والتي تستخدم في الدراسات الكيميائية الحياتية.

3 - 2 الأحماض والقواعد

تعتبر دراسة كيمياء الأحماض والقواعد ضرورية إذا كان الغرض منها توصيف الجزيئات الحياتية، حيث إن العديد من المركبات الوسطية ذات الوزن الجزيئي الواطىء وكذلك الجزيئات العيانية المكونة للخلايا الحية، هي أحماض وقواعد لها القدرة على التأين.

تعتبر الشحنات الكهربائية على هذه الجزيئات عوامل مهمة في معرفة معدل سرعة التفاعلات الإنزيمية، وكذلك الترتيب الفراغي (conformation) واستقرارية البروتينات والالتحامات التي تحصل بين الجزيئات العيانية مع بعضها الآخر ومع الأيونات الصغيرة، وكذلك الطرق التقنية التحليلية والتقنية المستعملة في المختبر.

مفهوم برونستيد Bronsted Concept

إن الطريقة المفيدة لمناقشة الاحماض والقواعد في الكيمياء الحياتية العامة هي لتعريف الحامض الذي هو عبارة عن مادة تهب البروتون والقاعدة هي التي تتقبل البروتونات. ويعود هذا المفهوم إلى برونستيد فعندما يخسر حامض برونستيد البروتون تتكون قاعدة برونستيد، ويطلق على الحامض الاصلي والقاعدة المتولدة بزوج ـ الحامض المرافق ـ القاعدة المرافقة. فالمادة التي تتقبل البروتون تكون قاعدة برونستيد مختلفة، وباستلام البروتون يتكون حامض برونستيد آخر. لذا ففي كل تأين للحامض أو القاعدة ينتج زوجان من الحامض المرافق ـ القاعدة المرافقة.

$$HA \quad + \quad B^- \rightleftharpoons A^- \quad + \quad HB$$

حامض مرافق   قاعدة مرافقة   قاعدة مرافقة   حامض مرافق-

يعتبر تعريف برونستيد أكثر التعاريف المناسبة في الانشطة الحياتية، فعند إذابة الحامض العضوي، مثلاً حامض اللاكتيك، في الماء يتفكك هذا الحامض جزئياً مكوناً حالة توازن بين الحامض والايون السالب (اللاكتيت) والبروتون وكما يلي :

$$\text{Lactic acid} \rightleftharpoons \text{Lactate} + H^+$$

فالحامض يعتبر ضعيفاً والأيون السالب يتصرف كقاعدة لاستلامه البروتون، فأيون الامونيوم (جذر الامونيوم NH_4^+) عبارة عن حامض يستطيع أن يتفكك إلى الامونيا والـ (H^+)، أما حامض الهيدروكلوريك وحامض الكبريتيك فهما حامضان قويان لانهما يتفككان كلياً.

أما الـ po_4^{-3} فهي قاعدة، إلاّ أن كل من الـ $H_2PO_4^-$ والـ HPO_4^{-2} فهما إما قاعدة أو حامضاً، ويعتمد ذلك على قدرة المجموعة الفوسفاتية في استلام أو وهب الالكترون. ويمكن تصور قدرة الحامض المرافق على التفكك وفقاً لقيمة الـ Keq . القيمة الصغيرة أقل قدرة لإعطاء البروتون، وبالتالي يصبح حامضاً ضعيفاً، اما عندما تكون قيمة الـ Keq كبيرة فالميل لان يتفكك إلى بروتون يكون كبيراً أيضاً وبالتالي يكون الحامض قوياً. ويمكن التعبير عن الـ Keq بصيغة الـ PK وفق ما يلي :

$$pK = \log \frac{1}{Keq}$$

فعندما يكون الـ Keq صغيراً تصبح الـ PK كبيرة.

ومن الأحماض الضعيفة حامض الكربونيك الذي يلاحظ عند إذابة ثاني أوكسيد الكاربون في الماء وفق التفاعل التالي :

$$CO_2 + H_2O \rightleftharpoons H_2CO_3 \rightleftharpoons H^+ + HCO_3^-$$

حيث يكون الـ H_2CO_3 في حالة توازن مع الـ CO_2 المذاب. وفي النظام المائي الذي يتلامس مع الطور الهوائي يكون الـ CO_2 المذاب بحالة توازن أيضاً مع الـ CO_2 في الطور الهوائي، وإن أي تغير في مكونات الطور المائي يسبب تحولاً في كلتا الحالتين من التوازن، فعند زيادة الـ CO_2 يؤدي ذلك إلى زيادة في كمية الـ H_2CO_3 وبالتالي يتحول التوازن إلى صالح التفكك وبزيادة في كمية الـ H^+ :

$$Keq = \frac{(H^+)\ (HCO_3)}{(H_2\ CO_3 + CO_3)}$$

إن كمية الـ H_2CO_3 الفعلية غير المتفككة أقل من 1/200 من الـ CO_2، لذا تحذف من الحساب. ومن المتعارف عليه أن يشار إلى الـ CO_2 المذاب كحامض مقترن وبذلك تعتبر المعادلة كما في التالي :

$$Keq = \frac{(H^+)\ (HCO_3)}{(CO_2)}$$

3 - 3 المحاليل المنظمة (الدارئات) Buffer solutions

المحلول المنظم هو المحلول الذي يقاوم التغير في أسه الهيدروجيني عند إضافة الحامض أو القاعدة، ويتكون من حامض ضعيف مع أحد أملاحه أو من قاعدة ضعيفة مع أحد أملاحها، مثلاً حامض الخليك وخلات الصوديوم يكونان معاً محلولاً منظماً، كما إن حامض الكاربونيك وبيكربونات الصوديوم في محلول مائي يكونان محلولاً منظمًا آخر.

نجـد من مـعـادلة هندرسون ـ هاسلباش أن الأس الهيدروجيني للمحلول المنظم يعتمد على عـاملين، أولهما قيمة الـ pKa والثاني النســبـة بين تركـيز الملح إلى تركيز الحامض :

$$pH + pka + \log \frac{(salt)}{(acid)}$$

إن التغير في تركيز أي من المكونات في تفاعل التوازن يعني بالضرورة تغيراً في كل مكون، فزيـادة الـH^+ تؤدي إلى نقـصان في تركيز القاعدة المرافقة مع زيادة مكافئة للحـامض المرافق. ويمكن التـعـبير عن هذه العـلاقة بإعادة تنظيم معادلة التوازن كما موضح في التفكك التالي :

$$\text{conjugate acid} \rightleftharpoons \text{conjugate base} + H^+$$

حامض مرافق　　　　　　　　قاعدة مرافقة

$$Keq = \frac{(H^+)\ (\text{conjugate base})}{(\text{conjugate acid})}$$

وبإعادة تنظيم المعادلة نحصل على :

$$\log \frac{1}{(H^+)} = \log \frac{1}{keq} + \log \frac{(\text{conjugate base})}{(\text{conjugate acid})}$$

ونظراً لكون

$$pH = \log \frac{1}{(H^+)}$$

و

$$pk^{\cdot} = \log \frac{1}{keq}$$

تصبح المعادلة عندئذ

$$pH = pk^{\cdot} + \log + \frac{(\text{conjugate base})}{(\text{conjugate acid})}$$

3 - 3 - 1 ما هو الداريء وكيف يعمل

إن داريء الأس الهيدروجيني هو المادة أو خليط من المواد التي تسمح للمحلول ليقاوم التغيرات الكبيرة في الأس الهيدروجيني - فعند إضافة الكميات الصغيرة للـ H^+ أو الـ OH^-، لذا فالداريء يساعد للحفاظ على أس هيدروجيني ثابت بصورة تقريبية عند إضافة كميات صغيرة من الـ H^+ أو OH^- في المحلول.

تحتوي خلائط الداريء المعروفة على مادتين هما : الحامض المرافق، والقاعدة المرافقة وإن الداريء الحامضي يحتوي على حامض ضعيف وملحها (القاعدة المرافقة). ويحتوي الداريء القاعدي على قاعدة ضعيفة وملحها (الحامض المرافق). وعند جمعها، أي الحامض المرافق والقاعدة المرافقة يمكن مقاومة التغيرات الكبيرة بالأس الهيدروجيني جزئياً بواسطة امتصاص الايونات المضافة H^+ و OH^- إلى النظام هذا. وعند إضافة أيونات الـH^+ إلى المحلول الداريء، تتفاعل جزئياً مع القاعدة المرافقة الموجودة لتكون الحامض المرافق. لذا تزال بعض أيونات الـ H^+ وعند إضافة الـ OH^- إلى المحلول الداريء، تتفاعل جزئياً مع الحامض المرافق الموجودة لتكون الماء والقاعدة المرافقة. لذا تزال بعض من أيونات الـ OH^-. يتغير الاس الهيدروجيني في المحاليل الدارئة عند إضافة أيونات OH^- و H^+. ومع هذا، فإن التغير يكون قليلاً جداً عما في الحالة التي لا يوجد فيها محلول داريء.

تعتمد كمية التغير على قوة الداريء، ونسبة :

$$\frac{(H^-)}{(HA)}$$

وعند اختبار منحني التسحيح نلاحظ أن التغير في الاس الهيدروجيني في منطقة الـ pKa يكون قليلاً جداً عند إضافة الـOH^-. لذا فإن $(HA + A^+)$ توفر عملاً دارئاً جيداً عند الاس الهيدروجيني 7.وان هذا الحامض الضعيف مع ملحه يعتبر دارئاً جيداً عند الأس الهيدروجيني 7، لذا فعند تحضير محلول دارئه عند الأس الهيدروجيني 7 فنستعمل عندئذ حامضاً ضعيفاً يكون pKa فيه قريباً من الـ 7.

3 - 3 - 2 ملامح معادلة هندرسون ـ هاسلباش

Henderson - Hasselbalch Equation

يمكن اشتقاق العلاقة التي تربط :

أ ـ Ka للحامض الضعيف، والأس الهيدروجيني للمحلول المتكون من حامض ضعيف.

أو

ب ـ Kb للقاعدة الضعيفة والـ pOH للمحلول المتكون من قاعدة ضعيفة.

أ ـ
$$Ka = \frac{(H^+)\ (A^-)}{(HA)}$$

وعند إعادة تنظيم المعادلة نحصل على :

$$(H^+) = Ka\ \frac{(HA)}{(A^-)}$$

وعند أخذ اللوغاريتم لكلا الجانبين :

$$\log\ (H^+) = \log Ka + \log\ \frac{(HA)}{(A^-)}$$

وعند ضرب الجانبين بـ 1-

$$\log\ (H^+) = \log Ka + \log\ \frac{(HA)}{(A^-)}$$

$$pH = pKa - \log\ \frac{(HA)}{(A^-)}$$

$$kb = \frac{(M^+)\ (OH^-)}{(M\ OH)}$$

$$(OH^-) = kb\ \frac{(MOH)}{(M^+)}$$

$$\log (OH^-) = \log kb + \log \frac{(MOH)}{(M^+)}$$

$$\log (OH^-) = \log kb - \log \frac{(MOH)}{(M^+)}$$

$$pOH = pkb - \log \frac{(MOH)}{(M^+)}$$

$$pOH = pkb + \log \frac{(M^+)}{(MOH)}$$

$$kb = \frac{(R—NH_3^+)\ (OH^-)}{\cdot\ (R—NH_2)}$$

$$(OH^-) = kb\ \frac{(R—NH_2)}{(R—NH_3^+)}$$

$$-\log (OH^-) = \log kb - \log \frac{(R—NH_2)}{(R—NH_3^+)}$$

$$pOH = pkb + \log \frac{(R—NH_3^+)}{(R—NH_2)}$$

ويلاحظ أنه عندمـا تكون تراكيز الحامض المرافق والقاعدة المرافقة متساوية فإن:

$$pH = pKa$$

و

$$poH = pKb$$

ويمكن ملاحظة نفس العلاقة من التعابير Ka و Kb وعندما يكون :

$$(A^-) = (HA)$$

$$(H^+) = Ka$$

وعندما يكون :

$$(R—NH_2) = (R—NH^+_3)$$

$$(OH^-) = Kb$$

وحسب ما جاء في المعادلات السابقة، فالأس الهيدروجيني للمحلول الذي يحتوي على HA و -A مستقل عن التركيز، ويعتمد الأس الهيدروجيني على نسبة القاعدة المرافقة إلى الحامض المرافق.

3 - 3 - 3 تغير الأس الهيدروجيني في الدارىء PH Change in buffer

يستعمل الدارىء بصورة عامة للحفاظ على أس هيدروجيني ثابت نسبياً خلال مجرى التفاعل الذي يولد أو يستعمل أيونات الـH^+. من المعروف أن قدرة الدارىء للحفاظ على أس هيدروجيني ثابت أو قريب منه تزداد بزيادة تركيز الدارىء ومع هذا، فمن غير الممكن بصورة دائمية أستعمال دارىء مركز نسبياً حيث إن الإنزيم، النسيج، أو الخلايا تحت الاختبار ربما تصبح حساسة إلى القوة الأيونية المرتفعة أو إن الاختبار يتطلب بأن ينتظم الأس الهيدروجيني بصورة سهلة إلى قيمة عالية أو منخفضة في نهاية التفاعل، لذا فالحالة الوسط هي المطلوبة. حيث يتم اختبار التركيز والأس الهيدروجيني للدارىء بحيث يكون الأس الهيدروجيني ثابتاً أو قريباً منه بدون حصول تعقيدات تسببها القوة الأيونية المرتفعة.

سعة الدارىء Buffer Capacity

نظرياً وعلمياً :

يشار إلى قدرة الدارىء لمقاومة التغيير في الأس الهيدروجيني بسعة الدارىء ويمكن تعريف سعة الدارىء بطريقتين :

1 - عدد المولات باللتر من الـ H^+ أوOH^- المطلوبة لتسبب تغيراً معيناً في الأس الهيدروجيني. أو :

2 - التغير في الأس الهيدروجيني الذي يحدث عند إضافة كمية معينة من الـ H^+ أو الـOH^- (مثال : مول / اللتر).

في أي نقطة وباستعمال معادلة هندرسون ـ هاسلباش نحصل على :

$$pH = pka + \log \frac{(A^-)}{(HA)}$$

$$= pka + Log\ (A^-) - Log\ (HA)$$

$$= pka + Log\ (A^-) - Log\ [(C) - (A^-)]$$

$$= pka + \frac{\ln (A^-)}{2.3} - \frac{\ln [(C) - (A^-)]}{2.3}$$

حيث :

C = التركيز الكلي لمكونات الدارىء

= (HA) + (A⁻)

وبالتفاضل بالنسبة إلى (A^-)

$$\frac{d\,pH}{d\,(A^-)} = \frac{1}{2.3\,(A^-)} + \frac{1}{2.3\,[(C) - (A^-)]}$$

$$= \frac{(C)}{2.3\ (A^-)\ [(C) - (A^-)]}$$

$d\,(A^-)$ هو نفس الـ $d\,(H^+)$ أو $d\,(OH^-)$ لأن كل مول من الـ H^+ المضافة يؤدي إلى استعمال A^- وكل مول من OH^- المضافة يتكون مول من الـ A^-.

وعند التعويض والقلب :

$$\frac{d\,(H^+)}{dpH} = \frac{d\,(OH^-)}{dpH}$$

$$= \frac{2.3\ (A^-)\ [(C) - (A^-)]}{(C)} = B$$

$$= \frac{2.3\,[(A^-)\ (HA)]}{(A^-) + (HA)}$$

وفي حالة التعويض الآخر من التعبير لـ Ka ينتج :

أو

$$= \frac{2.3\,ka\ (H^+)\ (C)}{[(ka + (H^+)^2]}$$

$$= 0.575\ (C)$$

حيث (H^+) = تركيز أيون الهيدروجين في الداريء.

يلاحظ أن β يزداد عند زيادة تركيز الداريء، ويبدو أن 0.25 مول من الداريء يقاوم التغير في الأس الهيدروجيني أفضل من 0.01 من الداريء، ويلاحظ أيضاً (بواسطة الحساب أو التجربة والخطا) أن β يكون في حالته العظمى عندما يكون :

$$(HA) = (A^-)$$

أو

$$Ka = (H^+)$$

أي أن الميل لمنحني التسحيح بدرجته الدنيا عندما يكون :

$$pKa = pH$$

أيضاً عندما يكون $Ka = (H^+)$

$$2.3\,(H^+)^2\,(C) / 2\,(H^+)^2 = B$$

$$2.3\,(H^+)^2\,(C) / 4\,(H^+)^2 =$$

أو

$$0.575\,(C) = B$$

ونظراً لكون P ذات علاقة بميل منحنى التسحيح في نقطة واحدة، فقيمته هي نفسها في حالة إضافة H^+أو OH^- إلى الداريء، أما التعريف العملي لسعة الداريء فهي عدد مولات الـ H^+ الذي يجب إضافته إلى لتر واحد من الداريء من أجل تقليل الأس الهيدروجيني بدرجة واحدة، وكذلك عدد مولات الـ H^+ التي يجب إضافتها إلى لتر واحد من الداريء من أجل زيادة الأس الهيدروجيني بدرجة واحدة.

ويلاحظ أن التفاعلات الكيميائية الحياتية من النادر أن تولد أيونات الـ OH^- ومع هذا، فهناك تفاعلات عديدة تستهلك أيونات من الـH^+، وأن استعمال n من المولات/اللتر من أيونات الهيدروجين خلال التفاعل له نفس التأثير على الدارىء عند إضافة n مولات من أيونات الـ OH^-/اللتر.

مكونات دارىء الخلات Acetate Buffer

يحتوي دارىء الخلات على حامض الخليك غير المتأين (HOAC) كحامض مرافق وأيونات الخلات (OAc^-) كقاعدة مرافقة والأخيرة يمكن توفيرها بصورة مباشرة بواسطة NaCAc ، KOAc، أو بواسطة تعادل جزء من HOAc مع الـ KOH أو الـ NaOH.

ففي المحلول الذي يحتوي على الحامض الضعيف مثل HOAc، هناك متطلبات معينة يجب أخذها بنظر الاعتبار ومنها :

$$\text{ثابت} = ka \quad \frac{(H^+)\ (OAc^-)}{(HOAc)}$$

فالتغير في أي واحد من المكونات الثلاثة هذه يسبب تغيراً في المكونين الآخرين تناسبياً بحيث تصبح ثابتة أيضاً.

$$ka \quad \frac{(H^+)\ (OAc^-)}{(HOAc)}$$

فمثلاً عند إضافة أيونات الـOH إلى المحلول، تتفاعل مع أيونات الـ H^+ الموجودة لتكون الماء (H_2O).

1- $$OH^- + H^+ \qquad H_2O$$

يحدث النقصان في الـ (H^+) اضطراباً في التوازن في الحال وبالتالي تفكك كمية أكبر من HOAc لإعادة ظروف التوازن.

2- $$HOAc \rightleftharpoons H^+ + OAc^-$$

فالنتيجة النهائية (وكذلك مجموع التفاعلات أو 2) توصف وكأن أيونات الـ OH^- قد أضيفت بصورة مباشرة إلى الحامض المرافق لدارىء الخلات ليكون الـ H_2O

مع قاعدة مرافقة (OAC^-) ولكن بكمية أكبر :

$$OH^- + HOAc \rightleftharpoons H_2O + OAc^-$$

وتحدث هذه التفاعلات بالحال وبنفس الصيغة، فعند إضافة أيونات الـ H^+ يتغير التوازن وتتفاعل القاعدة المرافقة (OAc^-) مع بعض الـ H^+ الزائدة لتكون HOAc غير المتأين.

$$H^+ + OAc^- \rightleftharpoons HOAc$$

والجدير بالذكر والتأكيد عليه أن أيونات OH^- أو الـ H^+ الزائدة لا تتعادل بصورة كاملة بواسطة الدارىء، أي إن الأس الهيدروجيني لا يبقى ثابتاً بصورة مطلقة عند إضافة الـ H^+ أو OH^-.

3 - 3 - 4 المحاليل المنظمة الفسيولوجية

لسوائل الجسم الداخلية بيئة ثابتة تعيش فيها الخلايا وتنجز وظائفها المختلفة دون التعرض إلى خطر عدم ثبات هذه الظروف، فمثلاً الأس الهيدروجيني للدم يجب أن يبقى ثابتاً ضمن حدود 7.35 - 7.45.

يحافظ الجسم عادة على ثبات الأس الهيدروجيني للدم بواسطة محاليله المنظمة وتشمل :

أ ـ البيكاربونات HCO_3^{-1} $NaHCO_3$

ب ـ الفوسفات $H_2PO_4^{-1}$ HPO_4^{-2}

ج ـ بروتينات البلازما/البومينات/كوبيلينات

د ـ الهيموغلوبين (Hb) Na Hb, HHb

تعتبر الكاربونات والالبومينات والكوبيلينات منظمات بلازمية مهمة، بينما الهيموغلوبين ومعظم الفوسفات يوجد في الكريات الحمراء، حيث إن للأصرة قوة منظمة، كما إن البيكربونات والفوسفات والبروتينات أنظمة في السائل خارج الخلية :

$$\frac{\text{بروتين البلازما}}{\text{بروتين البلازما}} \quad \frac{\text{Plasla protein حامض}}{\text{Plasma protein قاعدة}} \quad \frac{H_2PO_4\ \text{(قاعدة)}}{HPO_4\ \text{(قاعدة)}} \quad \frac{H_2CO_3}{HCO_3}$$

نجـد في خـلايا الدم الحمراء نوعين من المواد المنظمة، البيكربونات والفوسفات مع اثنين من المواد الهيموغلوبينية المنظمة :

$$\frac{\text{حامض hemoglobin}}{\text{قاعدة hemoglobin}} \qquad \frac{\text{حامض oxyhemoglobin}}{\text{قاعدة oxyhemoglobin}}$$

دارئات الدم Bolld Buffers

نظام HCO^-_3 / CO_2

يعـتبر هذا النظام أحـد نظامين دارئين في الدم. يتأين حامض الكاربونيك لحامض ثنائي البروتون ضعيف .

$$H_2CO_3 \underset{pKa_1 = 3.8}{\overset{Ka_1 = 1.38 \times 10^{-4}}{\rightleftharpoons}} H^+ + HCO_3^-$$

$$pKa_2 = 10.25 \quad \Updownarrow \quad Ka_2 = 5.6 \times 10^{-11}$$

$$H^+ + CO_3^{-2}$$

إن مـعظم الحـامض المرافق المذاب في الدم والسايتوبـلازم يوجـد بشكـل CO_2 و H_2CO_3. وإن CO_2 المذاب يكون في حالة توازن مع الـــ CO_2 في الوجه الغازي :

$$CO_2 \; \Updownarrow K \qquad\qquad CO_3^{-2} + H^+ \; \Updownarrow Ka_2$$

$$CO_2 + H_2O \overset{Keq_1}{\rightleftharpoons} = H_2CO_3 \overset{Ka_1}{\rightleftharpoons} H^+ + HCO^-$$

إن التوازن بين CO_2 (الغاز) والـــ CO_2 (المذاب) :

(CO_2) المذاب $= K\,(PCO_2)$

حيث إن تركيز الـ CO2 المذاب يتناسب بصورة مباشرة مع الضغط الجزيئي للـ CO2 في الوجه الغازي. ففي درجة الحرارة 37 مئوية والقوة الايونية 0.15 و $k = 10^{-5} \times 3.11$، عندما يكون الـ PCO2 يعبر عنه بشكل مم زئبق. إن ثابت التوازن للتفاعل الثاني يساوي 5×10^{-3} .

$$CO_2 + H_2O \rightleftharpoons H_2CO_3$$

$$keq_1 = \frac{(H_2CO_3)}{[CO_2]_{\text{المذاب}}} = 5 \times 10^{-5}$$

لذا من ثابت التوازن الكلي بين الـ CO_2 و $H^+ + HCO_3^-$ يوضح بواسطة :

$$ka^1 = \frac{(H^+)(HCO_3^-)}{(CO_2)} = keq_1 \times ka_1$$

$$= (5 \times 10^{-3})(1.58 \times 10^{-4}) = 7.9 \times 10^{-7}$$

و

$$pKa- = 6.1$$

ويمكن كتابة العلاقة كما يلي :

$$ka' = \frac{(H^+)(HCO_3^-)}{(3.01 \times 10^{-5}) \, Pco_2} = 7.9 \times 10^{-7}$$

وفي أي أس هيدروجيني :

$$pH = 6.1 + Log \frac{(HCO_3^-)}{(CO_2)}$$

$$pH = 6.1 + Log \frac{(HCO_3^-)}{(3.01 \times 10^{-5}) \, Pco_2}$$

ولجميع الأغراض العملية، فداريء البيكاربونات يمكن اعتباره متكوناً من HCC_3^- (القاعدة المرافقة)، والـ CO_2 المذاب (الحامض المرافق).

يحافظ الأس الهيدروجيني في الدم على قيمة 7.4 حيث أن تركيز الـ CO_2 المذاب يحافظ على ثبوته وبزيادة الـ CO_2 الذي يتولد بواسطة

$$H^+ + HCO_3^- \longrightarrow H_2O + CO_2^-$$

يطرد بواسطة الرئتين وبالعكس فـالدارىء المستعمل في المختبر يعتبر نظاماً مغلقاً فتركيز الحامض المرافق يزداد عندما يتفاعل الـ H^+ مع القاعدة المرافقة.

تعتبر البيكاربونات من المواد المنظمة المهمة في التوازن الحامضي القاعدي وهي على علاقة وثيقة بالإنتاج الثابت لثاني أوكسيد الكربون (CO_2)، وحامض الكاربونيك (H_2CO_3)، والبيكاربونات (HCO_3)، وبتفاعلات الهيموغلوبين والأكسي ـ هيموغلوبين في خلايا الدم الحمراء، وبالتحكم في تركيز حامض الكربونيك في التنفس. وتحت الظروف العادية للأس الهيدروجيني للدم (pH 7.4)، فإن المعادلة للمحلول المنظم للبيكربونات في الدم تكون كما يلي (حيث إن تركيز البيكربونات 27 ملي مكافىء في اللتر وتركيز حامض الكاربونيك 1.35 ملي مكافىء في اللتر)

$$7.4 = 6.1 + \log \frac{(HCO_3)}{(H_2CO_3)}$$

$$= 6.1 + \log \frac{27}{1.35}$$

$$= 6.1 + \log \frac{20}{1}$$

4 - 3 الشوارد (الألكتروليتات) Electrolytes

وهي المواد التي تتفكك إلى ايون موجب (كاتيون) وأيون سالب (انيون)، ويمكن منع هذه الأيونات من الالتحام مع بعضها جزئياً بواسطة الالتحام مع جزيئات الماء، وتسمى السكريات والكحولات التي تذوب في الماء ولكنها لا تحمل الشحنة بـ اللاالكتروليتات non- electrolytes ، وعندما تذوب أملاح الفلزات القلوية (alkali metals) مثل (Li, Na, K ...الخ) في الماء وبتراكيز منخفضة تتفكك بصورة كاملة، وعندما تكون تراكيزها مرتفعة تزداد احتمالية الالتحام بين الأيون الموجب والسالب،

وفي الأنظمة الحياتية التي تتصف بتراكيز واطئة من هذه الفلزات عن المنطقة يتم تفككها وبصورة كاملة.

أما أملاح الأحماض العضوية مثل لاكتيت الصوديوم فيتم تفككها بصورة كاملة أيضاً عند إذابتها في الماء، فالانيون الذي يتكون بتفاعل وبدرجة محدودة مع البروتون لتكوين الحامض غير المتفكك :

$$CH_3 - CHOH - COONa \longrightarrow Na^+ + CH_3 - CHOH - COO^-$$

لاكتيت الصوديوم　　　　　　　　أيون اللاكتيت

$$CH_3 - CHOH - COO^- + H^+ \rightleftharpoons CH_3 - CHOH - COOH$$

أيون اللاكتيت　　　　　　　　حامض اللاكتيك

وهناك العديد من الأحماض التي لا تتفكك بصورة كاملة عندما تذوب في الماء بل تكون حالة توازن بين المركب غير المتفكك واثنين أو أكثر من الأيونات فمثلاً يتفكك حامض اللاكتيك جزئياً إلى أيون اللاكتيت السالب.

$$CH_3\ CHOH - COOH \rightleftharpoons CH_3 - CHOH - COO^- + H^+$$

وبسبب التفكك الجزئي لهذه المركبات فإنها تسمى بالالكتروليتات الضعيفة.

هناك العديد من الأحماض التي لا تتفكك بصورة كاملة عندما تذوب في الماء بل تؤسس حالة توازن بين المركب المتفكك واثنين أو أكثر من الأيونات، فمثلاً يتفكك حامض اللاكتيك جزئياً إلى أيون اللاكتيت السالب والـH^+ وفق ما يلي :

$$CH_3\ CHOH - COOH \rightleftharpoons CH_3 - CHOH\ COO^- + H^+$$

وبسبب التفكك الجزئي لهذه المركبات فإنها تسمى بالالكتروليتات الضعيفة.

يمكن قياس مختلف تراكيز الأنواع الأيونية للالكتروليتات الضعيفة بواسطة معادلة التوازن التالية :

$$Keq = \frac{(H^+)\ (A^-)}{(HA)}$$

حيث A^- تمثل الأيون السالب المتفكك، و [ ] تركيز النوع الأيوني بمول/اللتر ويفضل عادة استعمال الفعالية بدلاً من التركيز في معاملة التوازن، إلاّ أن معظم

المركبات ذات العلاقة بالكيميائي الحياتي توجد بتراكيز واطئة تقترب فيها قيمة الفعالية من التركيز و keq يمثل ثابت التوازن الظاهري.

توجـد الايونات الرئيسية في سوائل الجسم بشكلين: موجبة مثل Mg^{+2} و Ca^{+2} و Na K^{+} والايونات السالبة مثل HCO_3^- و $H_2PO_4^-$ و SO_4^- وتقوم هذه الايونات بتوفير التـوازن الايوني للتاثيرات العصبية الداخلية والعضلية وفعالية الانسجة والذي يتناسب طردياً مع تركيز K^+ وNa^+ وعكسياً مع تركيز H^+ و Ca^{+2} والـ Mg^{+2} حيث مـثـلاً أن تركـيـز الـK^+ يـعـمـل عـلى تعطيل تقلص عـضـلات القلب، كما تعـمل الألكترولتـيـات هذه كأجـزاء فـعـالة في توازن الضـغط الأزمـوزي وتوفر نظام متقن للدارئـات. يوجـد الصـوديوم في بلازمـا الدم وقليل جـداً منه في خـلايا الدم الحمراء، ويعـتبر الأيون الرئيسي في السـائل الخـارجي، ويزداد مـسـتواه عن الحد الطبيعي في حالات الضغـط الدمـوي العالي والإغـماء الناتجـة عن مـرض السكـر كما إن الجفاف الشـديد يسبب خسارة في كميات كبيرة من الماء مؤدياً إلى الزيادة في تركيز الصـوديوم بينما تزداد قـيم البوتاسيوم في مرض اديسون وأمراض الكلى المتقدمة، وغزارة وشحة البول الحادة وتوقف وانسداد في المجاري البولية، وحالات الشلل وغيبوبة السكر، كما تقل قـيم البـوتاسـيـوم في الإسـهـال الشـديد والنقص في التـغـذية التي تحتوي على البـوتاسيوم. أما الكالسيوم فيوجد بصورة رئيسية في العظام، ويوجد في الدم بشكلين: غير فـعـال وظيـفياً وغير قابل للانتقال عندما يكون متحداً بالبروتين، بينما الكالسيوم الحر يكون فعالاً من الناحية الوظيفية وقابلاً للانتقال.

المصــــادر

1 - الكيـمـيـاء الحـيـاتيـة الفـيزيائية وتطبيقاتها في الكيمياء الحياتية وفي علم الأحياء الجزيئي ـ ترجمة د. سامي عبد المهدي المظفر .

2 - الكيـمـيـاء الحـيـوية ـ تأليف الدكتور عبد الرحمن أحمد الحملاوي ـ دار القلم ـ الكويت.

3 - Biochemical calculations, 2nd edition. Irwin H. Segal, John Wiley and Sons, Inc.

4 - Biochemistry, Geoffrey Zubay, Macmillan Publishing Company, Second edition, 1988.

الفصل الرابع

الدهنيات

4 - 1 تعريف ووجود الدهنيات

أطلق العالم بلوور "Bloor" في عام 1943 اصطلاح الدهنيات "Lipids" على الشحوم والزيوت، وهي مواد عضوية تمتاز بعدم قدرتها على الذوبان في الماء، وكذلك بدسامة ملمسها غير المتجانس، تذوب في المذيبات العضوية مثل الايثر والايثر البنزولي والبنزين والكلوروفورم ورابع كلوريد الكاربون والكحول الساخن. وتشتمل هذه المواد على الدهون، الزيوت النباتية والحيوانية، والشموع ومشتقاتها، وكذلك الزيوت العطرية مثل الالدهايدات والكيتونات والأحماض والكحولات والاسترات.

تنشتر الدهنيات في جميع الكائنات الحية وتكثر في البذور الزيتية (بذور القطن، السمسم، الكتان)، وكذلك في المصادر الحيوانية مثل الحليب والمخ وصفار البيض. وتقوم هذه المركبات بتجهيز الجسم بالطاقة، وتركيب الجزء المهم من الجهاز العصبي وتعمل كمولدات للبروستاكلاندين، وتلعب دوراً مهمّا في التاثير على ضغط الدم وتصلب الشرايين، وتعمل في بعض الأحيان كمضادات حياتية لبعض الهورمونات وتعمل كمنشطات لبعض الإنزيمات وتعمل كمكونات ناقلة للألكترونات في المايتوكوندريا، كما تشكل السطح الذي يكون الليبوسومات (Liposomes) والمتركب من طبقتين دهنيتين تساعد في حصول النفاذية التي تتميز بها الأغشية الطبيعية. والجدير بالذكر هنا أن جميع الدهنيات مركبات مشابهة للهايدروكاربونات.

4 - 2 تقسيم الدهنيات

يمكن تقسيم الدهنيات إلى ثلاثة أقسام رئيسية:

1 - الدهنيات البسيطة (Simple Lipids)

وتتضمن :

أ ـ الدهون والشحوم والزيوت (Fats and oils).

ب ـ الشموع والكحولات الشمعية.

2 - الدهنيات المركبة (Compound Lipids)

وتتضمن :

أ ـ الدهنيات الفوسفاتية Phospholipids : ومنها الخالية من النتروجين كالكاردويولبن، والاخرى الحاوية على النتروجين كالدهنيات الفوسفاتية الايثرية والبلازمولوجين والكيفالن واللسيسثين.

ب ـ الدهنيات السفنكولية Sphingolipids : وتتضمن : الدهنيات السفنكولية الكاربوهيدراتية، والسفنكومايلين، والسيرامايدات.

ج ـ دهنيات متنوعة مثل الكالاكتوزية والامينية والكبريتية.

3 - الدهنيات المشتقة (Derived Lipids)

وتتضمن :

أ ـ الاحماض الدهنية.

ب ـ التربينات.

ج ـ السيترويدات.

د ـ الكاروتينات .

هـ ـ الفيتامينات الذائبة في الدهون.

كما يمكن تقسيم الدهنيات إلى المجاميع التالية اعتماداً على تركيبها الكيميائي :

1 - الاحماض الدهنية.

2 - الدهنيات التي تحتوي على الكليسرول :

أ ـ الدهون المتعادلة :

1 - الكليسيريدات الاحادية والثنائية والثلاثية.

2 - ايثرات الكليسرول Glycerols Ethers.

3 - كلايكوسيلات الكليسرول Glycerols glyerols.

ب ـ الكليسيرايدات الفوسفاتية Phosphoglycerides :

1 - الفوسفاتيدات Phosphatidates.

2 - الفوسفاتيديل الثنائية ذات الكليسرول والفوسفواينوسايتيدات

Diphosphatidyl glycerols, Phosphoinositides.

3 - الدهنيات التي لا تحتوي على الكليسرول :

أ ـ الدهنيات السفنكولية Sphingolipids :

1 - سيراميدات Ceramides.

2 - سفنكومايلين Sphinomyelins.

3 - الكلايكوسفنكولية Glycosphingolipids.

ب ـ الكحولات الاليفاتيكية والشموع .

ج ـ التربينات Terpenes.

د ـ الستيرويدات Steroides.

4 - الدهنيات المتحدة مع مركبات أخرى :

أ ـ الدهنيات البروتينية Lipoproteins .

ب ـ الببتيدات الفوسفاتيدية Phosphatidopeptides .

ج ـ الاحماض الأمينية الدهنية Lipoamino acids .

د ـ الدهنيات ذات السكريات المتعددة Lipopolysaccharides .

ومن أحسن التقسيمات التي يعتمد عليها تلك التي تعطي الصورة الواضحة عن أقسام الدهنيات وحسب التفاصيل التالية :

1 - الدهنيات البسيطة : وهي أسترات الاحماض الدهنية مع الكحولات المختلفة.

أ ـ الدهون المتعادلة Neutral Fats

1 - الكليسريدات الأحادية والثنائية والثلاثية Mono, Di-, and Triglycerides.

2 - ايثرات الكليسريل Glyceryl Ethers.

4 - 3 الأحماض الدهنية Fatty acids

وهي الاحماض العضوية الهيدروكاربونية أحادية جذر الكاربوكسيل (COOH)، فمنها الأحماض ذات العدد المنخفض من ذرات الكاربون والتي تتراوح بين 2 - 10 مثل حامض الخليك والبيوتريك والكابريلك والكابريك متميزة بذوبانها في الماء وبتطايرها

عند التـقطير بالبخار (الأحماض الدهنية المتطايرة) وهي سائلة في درجة حرارة الغرفة، وهناك الاحماض الدهنيـة المشبعة ذات العدد المرتفع من ذرات الكربون 16 - 18 وعدد زوجـي من الكاربون 4 - 24 ذرة كـاربون غير دائري وغير مـتـفـرع بصورة عامة، وتكون إمـا تكون مـشـبـعـة أو غير مـشـبـعـة. ومن الأحماض المتـفـرعـة حـامض "Tuberculostearic" (19 ذرة كاربون) المستخلص من بكتيريا السل، وكذلك حامض "Lactobacillic" (19 ذرة كـاربون المسـتـخـرج من البيتيدات الفوسفاتية البكتيرية) وتوجد كذلك أحماض دهنية حلقية مثل حامض "Chaulmoogric" المستخرج من أحد الزيوت النباتية.

وتمتلك الأحماض الدهنيـة المخـتلفـة جميـعها مجموعة الكاربوكسيل وتختلف في وضـعـيـة ذرات الكربون فـبعضـها مشبع والبعض الآخر غير مشبع (تملك آصرة غير مشبعة - C = C - وتخـتـلـف أعـداد هـذه الاواصر في الأحماض الاولئيك "Oleic" والـلينوليئك "Linoleic" والـلينولينك "Linolenic" ... الـخ. وتلعب درجـة التـشـبع والاواصر غير المشـبـعة دوراً أساسياً في تحديد صفات هذه الأحماض. ويمكن تلخيص الصفات العامة لهذه الاحماض :

أ ـ بانها أحادية الكربوكسيل مع سلسلة هيدروكربونية مشبعة أو غير مشبعة.

ب ـ وأن عـدد ذرات الكربون في الأحماض الدهنيـة إمـا أن تكون زوجـيـة أو فـردية (أغلب الاحوال زوجية).

ج ـ وأن الأحماض الدهنية إما أن تكون مشبعة أو غير مشبعة (مجموعة R).

د ـ مجموعة R تكون عادة سلسلة غير متفرعة.

أكثر الأحماض الدهنية انتشاراً هي :

1 - حامض البالمتك $CH_3 (CH_2)_{14}$ - COOH

2 - ستيرك $CH_3 (CH_2)_{16}$ - COOH يحويان على 16 و 18 ذرة كاربون على التوالي.

3 - حـامض الاولينك وهو أكثر الأحماض الدهنية وجوداً وانتشاراً في الطبيعة ويتكون من 18 ذرة كاربون موجودة أيضاً في حامض الستيريك واللينوليك واللينولنيك.

تعتبر صفات الاحماض الدهنية نفسها في المركبات التي تحتوي على المجموعة الكاربوكسيلية فهي مركبات غير ذائبة في الماء، تذوب في المذيبات، وتنتج أملاحاً أو تتحول إلى استرات، كما يمكن اختزالها إلى ما يقابلها من الكحولات طويلة السلسة.

جدول (4 - 1)

الأحماض الدهنية المشبعة والزوجية

اسم الحامض	المصدر	عدد ذرات الكربون	الصيغة الكيميائية
البيوتريك	الزبد	4	$CH_3 (CH_2)_2 - COOH$
الكابرويك	الزبد ـ جوز الهند	6	$CH_3 (CH_2)_4 - COOH$
الكابريلك	الزبد ـ جوز الهند	8	$CH_3 (CH_2)_6 - COOH$
الكابرك	الزبد ـ جوز الهند	10	$CH_3 (CH_2)_8 - COOH$
لورك	جوز الهند	12	$CH_3 (CH_2)_{10} - COOH$
المرستك	جوز الهند	14	$CH_3 (CH_2)_{12} - COOH$
البلتك	الدهون الحيوانية والنباتية	16	$CH_3 (CH_2)_{14} - COOH$
ستيرك	الدهون النباتية والحيوانية	18	$CH_3 (CH_2)_{16} - COOH$
اراشيدك	زيت فستق العبيد	20	$CH_3 (CH_2)_{18} - COOH$
البيهنيك	زيت البيمن، زيت فستق العبيد	22	$CH_3 (CH_2)_{20} - COOH$
لكنوسيرك	الدهون السفنكولية	24	$CH_3 (CH_2)_{22} - COOH$

4 - 3 - 1 تسمية الأحماض الدهنية

هناك أنظمة رئيسية لترقيم ذرات الكربون للأحماض الدهنية :

أ ـ نظام Δ : تحسب ذرات الكربون بدءاً من النهاية الكربوكسيلية، فمثلاً حامض لينوليئك (الحامض الدهني C_{18}) يكتب بالصورة التالية :

$$18 : 2\Delta \ \ 9 , 12$$

ويعني الرقم 2 قبل Δ عدد الاواصر المزدوجة في الجزيئة، أما الارقام بعد (12,9) فتشير إلى مواقعها.

ب ـ نظام n : يتم الحساب من النهاية المثلية للجزيئة، لذا فحامض الليتوليك يعبر عنه بـ 9 , 6 - 18 : 2n

ولهذا النظام فائدة تتحدد ببقاء الأصرة المزدوجة غير متغيرة عند تقصير أو تطويل الحامض الدهني في النهاية الكربوكسيلية.

4 - 3 - 2 تصنيف الاحماض الدهنية

تتصف الأحماض الدهنية بكونها أحادية الكاربوكسيل ذات مجاميع هيدروكربونية متصلة بها وأن هذه الأحماض ذات عدد زوجي وخاصة حامض الستريك $C_{18}H_{36}O_2$ أو البالمتك $C_{16}H_{32}O_2$ ، وأن بعض هذه الاحماض غير مشبعة وقليل منها ذات مجاميع الكيتون والمثيل. وتوجد هذه الاحماض عادة بالأشكال التالية :

1 - مشبعة Saturated.

2 - غير مشبعة Unsaturated.

3 - الهيدروكسيلية Hydroxylic.

والجدير بالذكر أن الاحماض الدهنية ذات الاعداد الزوجية أكثر انتشاراً في الطبيعة مثل ذات الستة عشر ذرة كربون وذات الثمانية عشر ذرة كربون.

4 - 3 - 3 الأحماض الدهنية المشبعة Saturated Fatty Acids

وتتصف هذه الاحماض بكونها :

أ ـ غير متشعبة.

ب ـ الصيغة الجزئية $CH_3(CH_2)_nCOOH$.

حيث n = عدد المثيلين وتختلف من حامض إلى آخر، فمثلاً تصبح في حامض الخليك صفراً (CH_3COOH) وفي حامض المايوكولك (Mycolic) 86، وأن اكثر الاحماض الدهنية المشبعة انتشاراً في الدهون الحيوانية هي البالمتك (C_{16}) والستيرك (C_{18}) .

ويلاحظ في الجدول (4 - 2) أسماء الاحماض الدهنية العامة والصيغ الجزيئية

الجدول (4 - 2)

الاسماء المنظمة والعامة والصيغ الجزيئية والبنائية للأحماض الدهنية المشبعة

الصيغة البنائية	الصيغة الجزيئية	الاسم النظامي	الاسم العام
$CH_3\ COOH$	$C_2H_4O_2$	n - Ethanoic	حامض الخليك Acetic acid
$CH_3\ CH_2\ COOH$	$C_3H_6O_2$	n - Propanoic	حامض البروبرونك Propionic
$CH_3\ (CH_2)_2COOH$	$C_4H_8O_2$	n - Butanoic	حامض البيوترك Butyric
$CH_3\ (CH_2)_4COOH$	$C_6H_{12}O_2$	n - Hexanoic	حامض الكابروك Capric
$CH_3\ (CH_2)_6COOH$	$C_8H_{16}O_2$	n - Octanoic	حامض الكابرك Capric
$CH_3\ (CH_2)_7COOH$	$C_9H_{18}O_2$	n - Nonoic	حامض البيلاركونك Pelargonic
$CH_3\ (CH_2)_8COOH$	$C_{10}H_{20}O_2$	n - Decanoic	حامض الكابريلك Caprylic
$CH_3\ (CH_2)_{10}COOH$	$C_{12}H_{24}O_2$	n - Dodecanoic	حامض اللورك Lauric
$CH_3\ (CH_2)_{12}COOH$	$C_{14}H_{28}O_2$	n - Tetradecanoic	حامض الميرستك Myristic
$CH_3\ (CH_2)_{14}COOH$	$C_{16}H_{32}O_2$	n - Hexadecanoic	حامض البالمتك Palmitic
$CH_3\ (CH_2)_{16}COOH$	$C_{18}H_{36}O_2$	n - Octadecanoic	حامض السيترك Stearic
$CH_3\ (CH_2)_{18}COOH$	$C_{20}H_{40}O_2$	Eicosonoic	حامض الاراشدونك Arachidonic
$CH_3\ (CH_2)_{20}COOH$	$C_{22}H_{44}O_2$	Docosonic	حامض البهنيك Behenic
$CH_3\ (CH_2)_{24}COOH$	$C_{26}H_{52}O_2$	Hexacosonic	حامض السيروتك Ceerotic

للاحماض الدهنية المشبعة وصفات هذه الأحماض التي تعود إلى مجموعة الكاربوكسيل والجزء البارافيني منه، فحامضا الخليك والبروبرونك يقبلان الامتزاج بالماء، بينما لحامض البيوترك قابلية ذوبان محدودة في الماء تبلغ 5.6%، ولحامض الكابروك قابلية ذوبان تقدر بـ 0.4 %، أما الأحماض الأخرى ذات الأعداد الكبيرة من الكاربون غير ذائبة بالماء ولكنها سريعة الذوبان في المذيبات ذات القطبية الواطئة، كما تتصف الاحماض الدهنية المشبعة ذات عدد الكربون الاقل من 10 بكونها سائلة في درجة حرارة الغرفة وصلبة لذات السلاسل الأكثر طولاً.

للاحماض الدهنية الزوجية مشابهين هندسيين أحدهما يسمى بالسز Cis، والآخر بالترانس، وكلما زاد عدد الروابط غير المشبعة في الجزيئة زاد عدد المتناظرات الهندسية .

متناظرات الأحماض الدهنية غير المشبعة

تختلف هذه المتناظرات في أوضاع ذراتها ومجموعاتها حول الرابطة غير المشبعة (التناظر الفضائي ـ الهندسي)، فيكون الحامض الدهني الذي فيه رابطة مزدوجة بشكلين السز والترانس، وأكثرها انتشاراً الشكل السز.

(I) Cis

(II) Trans

الجدول (4 - 3)

الاحماض الدهنية غير المشبعة وعدد ذرات الكربون وعدد الاواصر ومواقعها

اسم الحامض	عدد ذرات الكربون	عدد الاواصر المزدوجة	مواقع الاواصر المزدوجة
البالمتوليئك	16	1	Δ^{9}
الاوليئك	18	1	Δ^{9}
اللينوليئك	18	2	$\Delta^{9,12}$
اللينولينك	18	3	$\Delta^{9,12,15}$
الاراشداونك	20	4	$\Delta^{5,8,11,14}$

Δ^{9} موقع الآصرة المزدوجة بين ذرتي الكربون 10 , 9

Δ^{12} موقع الآصرة المزدوجة بين ذرتي الكربون 13 , 12

Δ^{15} موقع الآصرة المزدوجة بين ذرتي الكربون 16 , 15

Δ^{5} موقع الآصرة المزدوجة بين ذرتي الكربون 6 , 5

Δ^{8} موقع الآصرة المزدوجة بين ذرتي الكربون 9 , 8

Δ^{11} موقع الآصرة المزدوجة بين ذرتي الكربون 12 , 11

4 - 3 - 4 الاحماض الدهنية ذات الاواصر الاربع المزدوجة

حامض الاراشيدونك Arachidonic acid

$CH_3 (CH_2)_4 CH = CHCH_2 CH= CHCH_2 CH=CHCH_2 CH= CH (CH_2) COOH$

Arachidonic 20 : 4 cis $\Delta^{-5}, \Delta^{-8}, \Delta^{-11}, \Delta^{-14}$

ويوجد هذا الحامض في الزيوت السمكية، كما يوجد في تراكيب الليسيثن والكيفالن الموجودة بكثرة في الكبد والدماغ وصفار البيض، وفي جدران الخلايا، ويعتبر أحد مولدي البروستاكلاندين (Prostaglandins PG) والمركبات ذات العلاقة. يستطيع جسم الإنسان بناء هذا الحامض من حامض اللينوليئك الحامض الدهني الاساسي الذي يجب تجهيزه مع الغذاء.

4 - 3 - 5 الاحماض الدهنية غير المشبعة Unsaturated Fatty acids

تتصف الاحماض الدهنية غير المشبعة بحملها أصرة واحدة أو أكثر من الاواصر المزدوجة كما هو مذكور في الجدول (4 - 5) مع أسماء وتراكيب بعض هذه الاحماض والتي تشمل :

أ ـ الاحماض الدهنية ذات الآصرة المزدوجة الواحدة "Mono ethenic" . $C_n H_{2n-1} COOH$

ب ـ الاحماض الدهنية ذات الآصرتين المزدوجتين "Dienoic" . $C_n H_{2n-2} COOH$

ج ـ الاحماض الدهنية ذات الثلاث أواصر "Trienoic" . $C_n H_{2n-3} COOH$

د ـ الاحماض الدهنية ذات الاواصر المزدوجة الأربع.

يغير عدم التشبع بعض صفات الاحماض الدهنية فيخفض درجة الانصهار وتزداد درجة الذوبان في المذيبات غير القطبية.

ومن أكثر الاحماض الدهنية انتشاراً في ذات الثديات تلك التي تملك أكثر من آصرة غير مشبعة مثل حامض لينوليئك (Linoleic) الذي يحمل آصرتين غير مشبعتين وأكثر الاحماض الدهنية غير المشبعة ذات الآصرة الواحدة هو حامض الاوليئك (Oleic)، وحامض البالمتوليئك ذو الآصرة الواحدة الواقعة بين ذرتي الكربون السابعة والثامنة.

وتحتوي بذور القطن وزيت الذرة على الاحماض الدهنية غير المشبعة المتعددة (الاحماض الدهنية التي لا تحتوي على اكثر من آصرة مزدوجة).

الاحماض الدهنية غير المشبعة التي تحتوي على آصرة مزدوجة واحدة

1 - حامض الاوليئك Oleic acid :

$$CH_3 (CH_2)_7 - \overset{H}{C} = \overset{H}{C} - (CH_2)_7 - COOH$$

$18 : 1$ Cis Δ^9

$HC - (CH_2)_7 - COOH$

$HC - (CH_2)_7 - CH_3$

وهو من أكثر الأحماض الدهنية غير المشبعة انتشاراً في الدهون الحيوانية وبشكل أعلى نسبة في الدهن البشري، ويقدر بـ 45% ، ويوجد طبيعياً بشكل سز "Cis"، أما نظيره الذي يشكل ترانس "Trans" فيطلق عليه باليادك "Elaidic" وهو لا يوجد في الطبيعة ويحضر بمعاملة حامض الاوليئك مع HNO_2 (حامض النتروز) :

$$\begin{array}{l} H - C - (CH_2)_7 - CH_3 \\ \quad\ \| \\ H - C - (CH_2)_7 - COOH \end{array} \xrightarrow{HNO_2} \begin{array}{l} CH_3 - (CH_2)_7 - CH \\ \qquad\qquad\qquad\ \ \| \\ \qquad\qquad\qquad GC - (CH_2)_7 - COOH \end{array}$$

حامض الاوليئك (Cis)
Oleic

حامض الاليادك
Eliadic

2 - حامض الاروسيك Erucic acid

$(22 : 1)\ \Delta^{13}$

يوجد في زيت نبات اللفت وله تاثير مضر في الجسم

$$CH_3 - (CH_2)_7 - CH = CH - (CH_2)_{11} - COOH$$

الأحماض الدهنية ذات الآصرتين المزدوجتين :

1 - حامض اللينوليئيك Linoleic acid

$$CH_3 - (CH_2)_4 - CH = CH - CH - CH_2 - CH = CH - (CH_2)_7 - COOH$$

$(18 : 2)$ Cis Δ^9 , Δ^{12}

$$\begin{array}{l} HC—(CH_2)_7—COOH \\ \| \\ HC—CH_2——CH \\ \qquad\qquad\quad\ \| \\ CH_3—(CH_2)_4—CH \end{array}$$

ويوجد في بذور الكتان وبذور القطن.

الأحماض الدهنية ذات الثلاث أواصر مزدوجة :

1 - حامض اللينولينك Linolenic acid

$CH_3—CH_2—CH=CH—CH_2—CH=CH—CH_2—CH=CH—(CH_2)_7—COOH$

$18 : 3$ Cis - Δ^9 , Δ^{12} , Δ^{15}

حيث يوجد في زيوت بذر الكتان، وهو حامض دهني أساسي موجود في غشاء المستلمات الضوئية للشبكية، لا يستطيع أن يتولد حياتياً من حامض اللينولينك.

2 - حامض Eleo - stearic

$CH_3—(CH_2)_3—CH = CH—CH = CH—CH = CH—(CH_2)_7—COOH$

وهو من الأحماض الشحمية الموجودة في دهن اللسان ويعتبر نظيراً لحامض اللينولينك.

4 - 3 - 6 الأحماض الدهنية الأساسية Essential Fatty acids

لا تصنع هذه الأحماض داخل الجسم لسد حاجاته، ولذا يتطلب تناولها ضمن الغذاء ويصنف كفيتامين F وتتضمن :

1 - حامض الاراشيدونك.

2 - حامض اللينولينك.

3 - حامض اللينوليئك.

وتدخل في تركيب أغشية الخلايا، وتتصرف كمولدة للبروستاكلاندين حيث يؤدي نقصانها إلى بطء النمو وتغيرات في الجلد والشعر وضعف في الفعاليات التناسلية.

تتواجد هذه الأحماض الاساسية في الجوز وصفار البيض والزبد.

مشتقات الاحماض الدهنية :

أ ـ الأحماض الدهنية الحلقية Cyclic Fatty acids

$$\begin{array}{l} CH{=}CH \diagdown \\ | \qquad\qquad\quad CH{-}(CH_2)_{12}\,COOG \\ CH_2{-}\,CH_2 \diagup \end{array}$$

حامض الكلولوركوك الدائري Chaulmoogric

ب ـ حامض اللاكتوباسلك Lactobacillic acid

$CH_2\,(CH_2)_5$ - CH - CH - $(CH_2)_9\,COOH$

4 - 3 - 7 تحضير الأحماض الدهنية

تحضر هذه الأحماض بالطرق التالية :

أ ـ التحلل المائي للدهون والزيوت والشموع بالأحماض.

ب ـ الإنزيمات :

وهي من الطرق السهلة الاستعمال تعطي خليطاً من الأحماض الدهنية المختلفة من دهن أو زيت أو حامض .

الدهن

حامض | Lipase ↓

أحماض دهنية + كليسيرول

ويتم هضم الدهنيات مثل الكليسيريدات في المجرى المعدي بواسطة الإنزيمات المحللة إلى الكليسرول والأحماض الدهنية، ويمكن أن يتكون من خلال هذا الهضم الكليسيريدات الثنائية والأحادية بالإضافة إلى النواتج النهائية التي تتكون أثناء عمليات الهضم.

4 - 3 - 8 تفاعلات الأحماض الدهنية

1 - تفاعلات الاحماض المشبعة

أ ـ تكوين الاسترات

$$R—COOH + HO—R \longrightarrow R—CO—OR + H_2O$$

وهو من أكثر التفاعلات انتشاراً حيث تتفاعل جزيئة الحامض مع الكحول وبصورة عكسية لتكون جزيئة من الاستر والماء كعامل مساعد.

ب ـ تكوين الاميدات

$$R—COOH + HH_2N \longrightarrow R.\ CO.\ NH_2$$

$$R—\overset{\overset{O}{\|}}{C}—OH \xrightarrow{NH_3} R—\overset{\overset{O}{\|}}{C}—O^- NH_4^+ \xrightarrow{H_2O} R—\overset{\overset{O}{\|}}{C}—NH_2$$

$$CH_3—\overset{\overset{O}{\|}}{C}—OH \xrightarrow{NH_3} R—C—ONH_4 \xrightarrow[-H_2O]{Heat} CH_3\ CONH_3$$

ج ـ إحلال مجموعة الهيدروكسيل بالهالوجينيات

تتفاعل الاحماض الدهنية مع كلوريد الثيونيل مثلاً : PCl_5 , PCl_3

$$CH_3—\overset{\overset{O}{\|}}{C}—OH + PCl_3 \xrightarrow{50°} CH_3—\underset{\underset{O}{\|}}{C}—Cl + H_3PO_4$$

$$nC_{17}H_{35}\ COOH + SOCl_2 \longrightarrow nC_{17}H_{35}\ COCl + SO_2 + HCl$$

Stearoyl chloride

د ـ فقد مجموعة الكاربوكسيل

عند تسخين الحامض الدهني مع القلويات تحت ظروف جافة تفقد مجموعة الكاربوكسيل.

$$RCOOH \xrightarrow{CO_2} RH$$

هـ ـ اختزال الاحماض الدهنية

تختزل هذه الأحماض بالهيدروجين إلى كحولات بوجود عامل مساعد (كروميت النحاس) والتي تتحول إلى الاستر بوجود حامض الكبريتيك.

$$R—CH_2\,COOH + H_2 \longrightarrow RCH_2\,CH_2\,OH$$

وتعتبر استرات حامض الكبريتيك الملحية منظفات راقية جداً

$$R—COOH \xrightarrow{\text{عامل مساعد}} RCH_2OH$$

$$\downarrow H_2SO_4$$

$$RCH_2OSO_3H$$

$$\downarrow NaOH$$

$$RCH_2OSO_3Na$$

و ـ تفاعل الاحماض الدهنية مع القلويات

تتفاعل هذه الاحماض مع القلويات مكونة الاملاح والماء.

$$R.COOH + NaOH \longrightarrow R.COONa + H_2O$$

ز ـ التفاعل مع المعادن

$$CH_3\,COOH + Zn \longrightarrow (CH_3\,COO^-)_2\,Zn + H_2$$

ح ـ التفاعل مع بيروكسيد الهايدروجين لتكوين الاحماض البيروكسيدية

$$R\,COOH + HO—O—H \xrightarrow{H_2SO_4} R—\underset{\underset{O}{\|}}{C}—O—OH + H_2O$$

$$CH_3COOH + HO—O—H \xrightarrow{H_2SO_4} CH_3—\overset{\overset{O}{\|}}{C}—O—OH$$

ط ـ تكسر الأحماض الدهنية وأملاحها فتكون الكيتونات

$$2R—\overset{\overset{O}{\|}}{C}—OH \longrightarrow R\overset{\overset{O}{\|}}{C} — R + CO_2 + H_2C$$

$$(R-—\overset{\overset{O}{\|}}{C}—O^-)_2\, Ca^{++} \xrightarrow{\text{التسخين}} R—\overset{\overset{O}{\|}}{C}—R + Ca\, CO_3$$

ي ـ تفكك الأحماض الدهنية

$$RCOOH \rightleftharpoons RCOO^- + H$$

$$Ka = \frac{[H^+]\,[RCOO^-]}{RCOOH}$$

فـفي الاس الهيـدروجـيني الفـسـيـولوجي تتاين الاحماض الدهنية، ويبلغ ثابت التفكك pKa لمعظم الاحماض الدهنية 4.76 - 5.0.

ك ـ التفاعل P_2S_5

$$RCOOH\, P_2S_5 \longrightarrow \left[\begin{array}{c} R—\overset{\overset{O}{\|}}{C}—SH \\ | \\ R—C—OH \end{array}\right] + P_2OS_4$$

تفاعلات الأحماض الدهنية غير المشبعة :

تقوم هذه الأحماض بنفس التفاعلات التي ذكرناها للأحماض المشبعة، إضافة إلى ذلك فهي لوجود الرابطة المزدوجة تقوم بالتفاعلات التالية :

ل ـ تفاعلات الإضافة : وتشمل :

(1) إضـافـة الهيـدروجين : يضـاف غـاز الهيـدروجين إلى الرابطة الزوجية في وجود النيكل، البـلاتنيـوم، البـاليـديوم، النيكل النشط لعـامل مـسـاعـد، وتتحول هذه الاحماض إلى أحماض مشبعة ومن حالة السيولة إلى حالة الصلابة فحامض الـ Oleic يتحول إلى حامض Stearic.

$$CH = CH—COOH + H_2 \longrightarrow R.CH_2\,CH_2\,COOH$$

$$CH_3\,(CH_2)_7\,CH = CH\,(CH_2)_7\,COOH$$

Oleic | H_2 Palldium, platinum

عامل مساعد

$$CH_3\,(CH_2)_7\,CH_2\,CH_2\,(CH_2)_7COOH$$

(2) التفاعلات مع الهالوجينات، اليود، الكلور، البروم، الكلورايد .

$$RCH = CH—COOH + I_2 \longrightarrow RCHI—CHI—COOH$$

تضاف هذه الهالوجينيات إلى الاواصر المزدوجة الموجودة في الاحماض الدهنية غير المشبعة وفي حضور مذيب مناسب.

$$CH_3\,(CH_2)_7\,CH = CH\,(CH_2)_7\,COOH$$

Oleic | Br_2

$$CH_3\,(CH_2)_7—\underset{\underset{Br}{|}}{\overset{\overset{H}{|}}{C}}—\underset{\underset{Br}{|}}{\overset{\overset{H}{|}}{C}}—(CH_2)_7\,COOH$$

م ـ أكسدة الأواصر المزدوجة

تتاكسد الاواصر المزدوجة عند وجود الأحماض الحرة لتكون أولاً Peroxides والتي تتحول إلى الالدهايد معطية روائح غير مقبولة (التزنخ) Rancidification.

ويعتقد بأن التفاعل يشمل الهجوم على الأواصر المزدوجة بجذور البيروكسايد وتكوين الجذر البيروكسيدي Radical peroxide غير الثابت والذي يتحلل إلى الكيتو والهايدروكسي للاحماض الكيتونية. ويمكن أن تتم أكسدة هذه الاواصر وبصورة أسرع عند وجود الأوزون Ozone (O_3) حيث يتكون أولاً اوزونايد Ozonide غير الثابت يتبعه التكسر بواسطة الماء تحت ظروف الاختزال ليعطي نوعين من مجاميع الالدهايد.

$$-CH=CH \xrightarrow{O_2} \underset{O-O}{\overset{-CH-CH-}{|\quad\;\;|}}$$

الحامض غير المشبع

Peroxide

$$\underset{O\quad OH}{\overset{-C-CH-}{\|\quad\;|}} \longleftarrow \underset{HO\quad OH}{\overset{-C=C-}{|\quad\;\;|}}$$

Ketohydroxide

Enediol

$$-CH-CH- \text{ (bridged by } O\text{)}$$

Epoxide

$$-CH-CH- \text{ (bridged by } O\text{)}$$

O

Maloxid

$$-CH_2-CH=CH-CH_2 \longrightarrow CH_2-\underset{O-\!-\!-O}{\overset{O}{CH\quad CH}}-CH_2$$

$$\xrightarrow{PtIh_2 \;|\; H_2O} -CH_2-\overset{O}{\overset{\|}{\underset{H}{\underset{|}{C}}}}+\overset{O}{\overset{\|}{\underset{H}{\underset{|}{C}}}}-CH_2-$$

ن - تفاعلات الأكسدة

عند استعمال فوق برمنجات البوتاسيوم أو حامض الكروميك يتاكسد الحامض الدهني نهائياً إلى $H_2O + CO_2$.

$$R—CH = CH\ COOH$$

برمنجات البوتاسيوم / تركيز مخفف:

$$R.\ \underset{OH}{CH}—\underset{OH}{CH}—COOH$$

$$\downarrow$$

$$R\ CHO + OHC—COOH$$

$$\downarrow$$

$$R\ COOH + HOOC.COOH$$

برمنجات البوتاسيوم / تركيز عالي:

$$H_2O + CO_2$$

$$CH_3\ (CH_2)_7\ CH = CH\ (CH_2)_7\ COOH$$

$$\downarrow KMnO_4$$

$$CH_3\ (CH_2)_7\ CHOH—OH\ (CH_2)_7\ COOH$$

9,10—Dihydroxy Stearic

$$CH_3\ (CH_2)_7\ CH = CH\ (CH_2)_7\ COOH$$

$$\downarrow KMnO_4$$

$$CH_3\ (CH_2)_7\ COOH + HOOC\ (CH_2)_7\ COOH$$

Pelarganic حامض Azelaic حامض

4 - 4 الدهون

إن من أهم خـواص الدهون التي تحـتـوي على الأحماض الشـحـمية غير المشبعة (الزيوت) درجـة انصـهارها الواطئة، حيث إنها سائلة في درجة حرارة الغرفة. ويمكن التـفـريق بين هذه الزيوت والزيوت المعدنية المستخرجة من النفط مثل البارافين، وهي عبارة عن هايدروكاربونات غير قابلة للهضم ولا يمكن تصنيعها كغذاء.

تحتوي الزيوت السائلة على نسب عالية من الأحماض غير المشبعة التي يمكن تحويلها إلى شحوم صلبة بواسطة عملية الهدرجة التي تتم بإمرار الهايدروجين على الزيوت تحت ظروف خاصة، ولمعرفة درجة عدم تشبع الدهون تستعمل طريقة تعيين قيم اليود.

والدهون البسيطة بصورة عامة عبارة عن استركليسرولي مع الأحماض الدهنية، حيث يتحد الكليسرول الذي يحتوي على ثلاث مجاميع هيدروكسيلية مع ثلاث جزيئات من الأحماض الدهنية مكوناً ثلاثي الكليسيرايد أو مع جزيئتين من الاحماض الدهنية مكوناً ثنائي الكليسيرايد أو مع جزيئة واحدة من الأحماض الدهنية مكوناً أحادي الكليسيرايد.

تنشأ هذه الدهنيات من اتحاد الكحول مع الأحماض الدهنية وتختلف عن الشموع وفق نوع الكحول الداخلي في التركيب البنائي، وقد تختلف في نوع الاحماض الدهنية. وتقوم هذه الدهون بتجهيز الطاقة للحيوانات والنباتات، وتخزن هذه المركبات تحت الجلد في حيوانات الدم الحار كواق ضد الظروف الطبيعية غير الملائمة.

ويمكن تسميتها بالدهون المتعادلة "Neutral Fats" والتي تتكون من وحدات بسيطة (الحماض الدهنية والكحول Glycerol) مكونة ما يسمى بالكليسيرايد "Glyceride" وتشمل الكليسيرايدات الاحادية والثنائية والثلاثية.

توجد هذه الدهنيات في دهن الخنزير وشحمه، والشحم الحيواني، وزبد الحليب، وجميع الدهنيات (الدهون) الحيوانية، وزيت الزيتون، وبذرة القطن، والذرة، والفول، السوداني، وبذور الكتان، وجوز الهند، وفول الصويا، وجميع الزيوت النباتية.

الجدول (4 - 4)

التراكيب البنائية للكليسيرايدات المتعادلة عن Zubay

Common Name	Systematic Name	Structure
Trigyvceride	1, 2, 3 -Triacyl - sn - glycerol	$R'-\overset{O}{\overset{\parallel}{C}}OCH(CH_2O\overset{O}{\overset{\parallel}{C}}R)(CH_2O\overset{O}{\overset{\parallel}{C}}R)$
Diglyceride	1, 2 - Diacyl - sn - glycerol	$R'-\overset{O}{\overset{\parallel}{C}}OCH(CH_2O\overset{O}{\overset{\parallel}{C}}R)(CH_2OH)$
Monoglyceride	1-Monoacyl - sn - glycerol	$HOCH(CH_2O\overset{O}{\overset{\parallel}{C}}R)(CH_2OH)$

4- 4 - 1 الصفات الكيميائية والفيزيائية للزيوت والدهون

الزيوت والدهون النقيـة (ويقصد بها الكليسيرايدات "Glycerides" النقية مواد عـديمة اللون والطعم والرائحة) أما الزيوت غير النقية فهي ذات روائح ولون، أما طعم المواد الشـائبـة والكثافة النوعية فهي أقل من كثافة الماء وتطفو على سطح الماء وتذوب بالدهون في المذيبـات العـضـوية. لا تذوب في الماء فـدرجـة الذوبان ودرجة الانصـهار تنخـفض للزيوت التي تحـتـوي على أحماض دهنيـة ذات السلسـة القـصيرة ودرجة التشبع العالية.

فـدرجـة التـشـبع والزيادة في طول السلسلة تزيد من درجـة الانصــهـار، فمثلاً السـتيرن الثلاثي Tristearin صلب القـوام بدرجـة حـرارة الغـرفـة (درجة الانصهار

71م)، بينما البيوبرن الثلاثي Tributyrin لـه درجـة انصهار 17 م، والتراي اوليئن Triolein وهي سائلة في هذه الدرجة.

(أ) التزنـــخ Rancidity

تتـغير الصـفـات الفـيـزيائيـة والكيميائية نتيجة تعرض الدهون لمؤشرات مختلفة يصـحـبـها ظهور طعم ورائحة مميزة نتيجة لتكون مركبات الدهايدية وكذلك كيتونية بسـبب حـدوث أنواع من التـزنخ، فـالأول يسـمى بتـزنخ التحليل المائي الذي يحدث بواسطة الإنزيمات والثاني يطلق عليه بالتزنخ الكيتوني بسـبب وجود بعض الفطريات المسـببة للأكسدة من نوع بيتا. أما تزنخ الاكسدة فيعود إلى أوكسـجين الهواء يصاحبه زيادة كثافة ولزوجة الزيت أو الدهن.

ويمكن الكشف عن تزنخ الدهون بالطرق التالية :

(1) قياس قيمة الحموضة Acid value.

(2) قياس الالدهايدات.

(3) قياس رقم البروكسايد Peroxide.

هناك نوعان من التفاعلات تكون مسؤولة عن ذلك بصورة رئيسية، التحلل المائي لارتباطات الاستر، وأكسدة الأواصر المزدوجة :

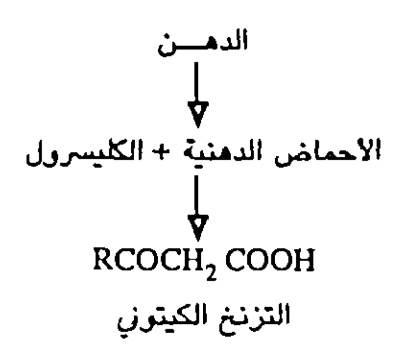
$$R{-}CH{=}CH{-}R + O_2 \longrightarrow R{-}\underset{\displaystyle O{-}{-}O}{CH{-}CH}{-}\bar{R}$$

$$\xrightarrow{H_2O} O + R.\underset{OH}{CH}{-}\underset{OH}{CH}{-}\bar{R}$$

$$\longrightarrow R.CHO \quad \bar{R}.CHO$$

التزنخ التاكسدي Oxidative rancidity

يقـوم أوكسـجين الهواء الجـوي بمـهـاجمة الأواصر غير المشـبـعـة الموجودة في التـفرعات الجانبية للكليسيرات ثلاثية الاسيل لينتج حوامض كربوكسيلية والديهايدات متطايرة قصيرة السلسلة.



ب ـ هدرجة الزيوت :

يتحول قسم من الأواصر المزدوجة في الزيوت النباتية إلى ما يشبه الشحوم الحيوانية لتكون مواد صلبة في درجة حرارة الغرفة. والجدير بالذكر أن الهدرجة الكاملة للحصول على رقم يودي يساوي الصفر عملية غير مستحبة تجعل منه هشاً وكريه المذاق، ويفضل عادة تحديد درجة الهدرجة بحيث تترك بعض الأواصر المزدوجة.

عند إضافة جزيئة واحدة من الهيدروجين إلى جزيئة واحدة من التركيب لا يخفض الرقم اليودي من 89 إلى 59 (من زيت الزيوت إلى شحم الخنزير).

تتحول الزيوت والدهون إلى مركبات مشبعة وذلك باستعمال الهيدروجين بوجود عامل مساعد مثل النيكل وفي درجة حرارة 150 - 190م الذي يحول الزيت من الحالة السائلة إلى مواد صلبة وحسب المعادلة التالية :

حامض لينوليك ــــهدرجةــــ◄ حامض اوليك ــــهدرجةــــ◄ حامض ستريك
حامض ستريك

ونتيجة للهدرجة تزداد قابلية الزيوت للحفظ ضد التزنخ إضافة إلى التغييرات في بعض الخواص الطبيعية والكيميائية.

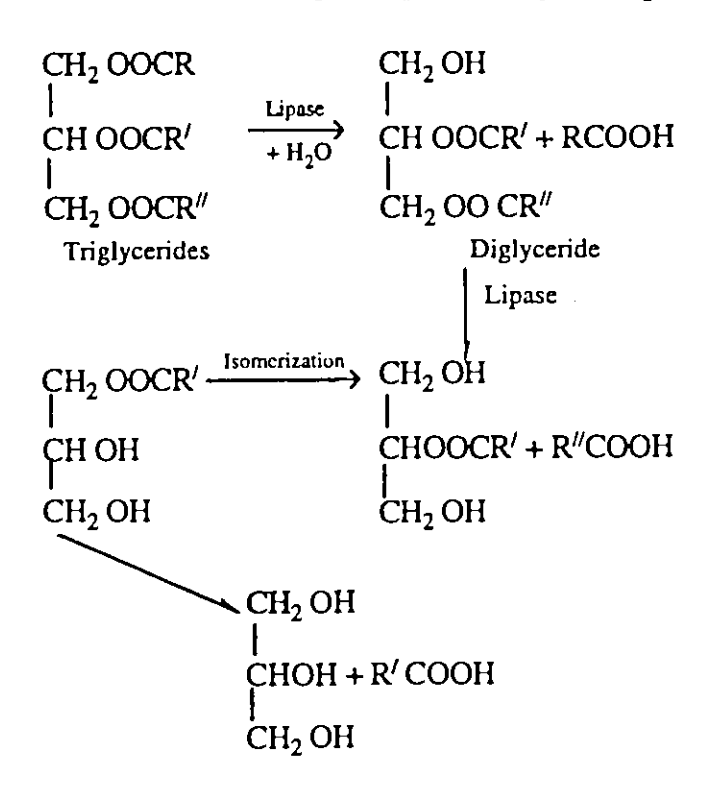
يمكن مثلاً تحويل الستيرن الثلاثي "Tristearin" إلى الاوليئن الثلاثي "Triolein" بالهدرجة عند وجود النيكل كعامل مساعد.

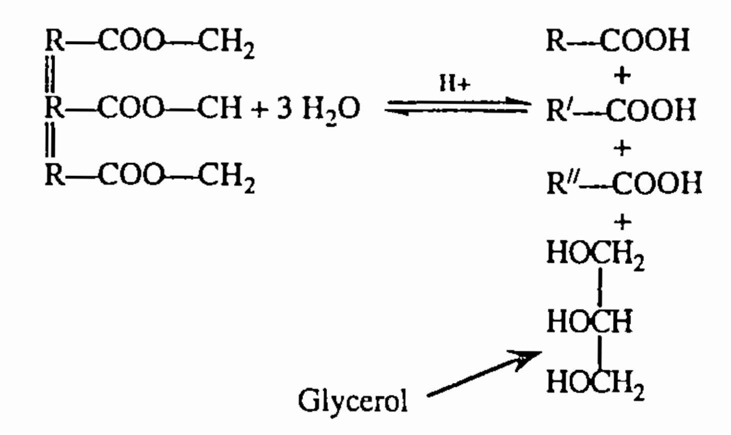
$$-\overset{\overset{H}{|}}{C}=\overset{\overset{H}{|}}{C}- + 2H \xrightarrow{Ni}$$

$$\begin{array}{lcl} CH_2.O.CO.C_{17}H_{33} & & CH_2.O.CO.C_{17}H_{35} \\ CH.O.CO.C_{17}H_{33} + 6H & \longrightarrow & CH.O.CO.C_{17}H_{35} \\ CH_2.O.CO.C_{17}H_{33} & & CH_2.O.CO.C_{17}H_{35} \\ \text{Triolein} & & \text{Tristearin} \end{array}$$

ج ـ تحلل الدهون :

تقوم الإنزيمات والأحماض بتحلل الدهون مكونة الكليسرول "Glycerol" والأحماض الدهنية. حيث تكسر الأواصر الاسترية بأخذها جزيئة ماء منتجة الكليسرايد الثنائي أولاً. تقوم الإنزيمات في الاقنية الهضمية للإنسان والحيوان بهذا التحلل المائي لروابط الاستر في الكليسيرولات ثلاثية الاسيل.





ويحصل هذا التفاعل بصورة بطيئة في الماء المغلي ويمكن إسراعه بإضافة كمية من (+H) أو (-OH) . وتسمى الإنزيمات التي تسرع من تحلل الدهن المتعادل في الحيوانات والنباتات بالاستيريز Esterase أو بصورة دقيقة اللايبيسز Lipases:

$$
\begin{array}{ll}
CH_2 . O . CO. C_{17} H_{35} & CH_2 OH \\
CH . O . CO . C_{17} . H_{35} + 3NaOH \longrightarrow & CHOH \\
CH_2 . O . CO . C_{17} H_{35} & CH_2OH
\end{array}
$$

Tristerin — Glycerol

$+ \; 3C_{17} H_{35}—COONa$

ستيرات الصوديوم

د ـ الصابون وعلاقته بالزيوت

ينفصل الكليسرول عند تحلل الزيوت بالقاعدة وتتكون الأملاح للأحماض الدهنية والمسماة بالصابون الذائبة بالماء والتي لا تذوب في المذيبات غير النظيفة.

$$
\begin{array}{ll}
CH_2 OOCR & CH_2 OH \\
CH . OOCR \quad 3NaOH \longrightarrow & CHOH \\
H_2 OOCR & CH_2 OH
\end{array}
$$

3R. COONa (الصابون)

ويذوب صابون الصوديوم والبوتاسيوم بالماء بينما لا يذوب صابون الكالسيوم والمغنيسيوم .

$$\begin{array}{l} H_3C - (CH_2)n - \overset{O}{\overset{\|}{C}} - O - CH_2 \\ \qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\quad | \\ H_3C - (CH_2)n - \overset{O}{\overset{\|}{C}} - O - CH \\ \qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\quad | \\ H_3C - (CH_2)n - \overset{O}{\overset{\|}{C}} - O - CH_2 \end{array}$$

$$3Na^+ + \big\downarrow + 3OH^{\ominus}$$

$$\begin{array}{l} HO - CH_2 \\ \qquad\ | \\ HO - CH \quad + \quad 3N_3\,C - (CH)_2n - \overset{O}{\overset{\|}{C}} - \bar{O} \\ \qquad\ | \\ HO - CH_2 \qquad\qquad + 3Na \end{array}$$

ويعتبر هذا التفاعل غير عكسي ولا تتحدد أيونات الكاربوكسيل مع المجاميع الهيدروكسيلية للكليسرول.

$$\begin{array}{l} CH_2-O-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-R \\ | \\ CH-O-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-R \\ | \\ CH_2-O-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-R \end{array} \xrightarrow{3KOH} \begin{array}{l} CH_2OH \\ | \\ CHOH + 3R\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O^- \\ | \\ CH_2OH + 3K^+ \end{array}$$

$$\begin{array}{l} CH_2O-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-R \\ | \\ CH-O-\overset{O}{\overset{|}{C}}-R \\ | \\ CH_2O-\overset{O}{\overset{|}{C}}-R \end{array} \xrightarrow{3HOH} 3RCOOH + \begin{array}{l} CH_2OH \\ | \\ CHOH \\ | \\ CH_2OH \end{array}$$

$$\begin{array}{l} CH_2-O-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-R \\ | \\ CH-O-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-R + 3NaOH \\ | \\ CH_2-O-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-R \end{array} \longrightarrow \begin{array}{l} CH_2OH \\ | \\ CH_2OH + 3R-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-ONa \\ | \\ CH_2OH \end{array}$$

وتستعمل هذه القيمة لمعرفة طول السلسلة في الحامض الشحمي، فكلما كان الحامض الدهني أقصر سلسلة تكون قيمة التصبن أكبر. فمثلاً يحتوي الزبد على نسبة عالية من الأحماض الدهنية ذات السلسلة القصيرة (البيوترك والكابروك) ذات قيمة التصبن العالية، بينما للزبد الصناعي (ماركارين) الذي يحتوي على حوامض دهنية ذات سلسلة طويلة فله قيمة تصبنية أقل بحوالي 180.

الجدول (4 - 5)

الصفات الطبيعية للشحوم والكليسيرايد الثلاثي

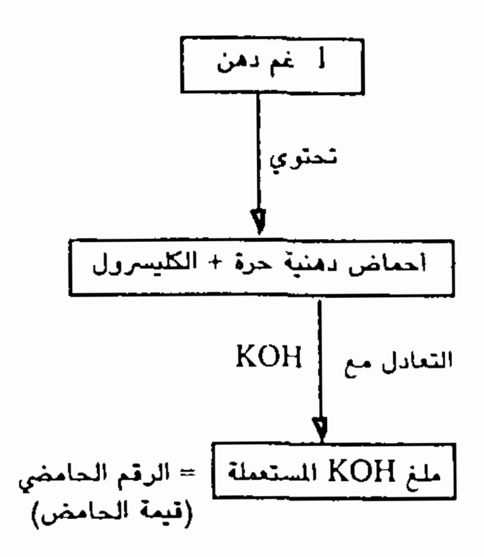
(1) الذوبان	غير ذائب بالماء، ذائب بالاثير، والكلوروفوم
(2) الكثافة النوعية	اقل من 1.0
(3) درجة الانصهار	تختلف من +75 م إلى -75 م
(4) اللون، الطعم، الرائحة	لا توجد عند النقاوة

4 - 4 - 2 طرق قياس الخواص الكيميائية للكليسيرايدات

يمكن قياس مختلف الخواص الكيميائية للزيوت والدهون وذلك بإجراء الطرق التالية حيث كل منها تعبر عن صفة من هذه الصفات، يحددها التفاعل الذي يجري بها :

أ ـ قيمة الحامض Acid Value

ويعرف بـ (عدد الملغرامات من KOH) اللازمة لمعادلة الأحماض الدهنية المنفردة في غرام واحد من الدهن أو الزيت، وتساعد هذه القيمة على معرفة مقدار الأحماض المنفردة في الدهن أو الزيت وإن أية زيادة في هذا الرقم تدل على حدوث تزنخ للمادة الدهنية.



ب ـ رقم التصبن Saponification Number

ويعرف بـ (عدد الملغرامات من الـ KOH اللازمة لتصبح غراماً واحداً من الدهن أو الزيت)، وتزداد قيمة التصبن إذا كان كل من حامض الستيرك Stearic والبالمتك Palnitic موجوداً في المواد الدهنية.

$$\text{الوزن الجزئي} = \frac{3 \times 56 \times 1000}{\text{رقم التصبن}}$$

والرقم هذا يعتبر مقياس عكس لمعدل الوزن الجزيئي للكليسريدات المختلطة المكونة لزيت أو دهن معين، وهو من الثوابت المهمة لتشخيص بعض الزيوت.

الوزن الجزيئي للأحماض الدهنية

1 غم من الدهن

↓

التحلل المائي بواسطة زيادة من 0.5 عياري من الـ KOH

(س مغم)

↓

بعض الـ KOH + أملاح الاحماض الدهنية

(ص مغم)

التسحيح بحامض قياس لقياس ص

↓

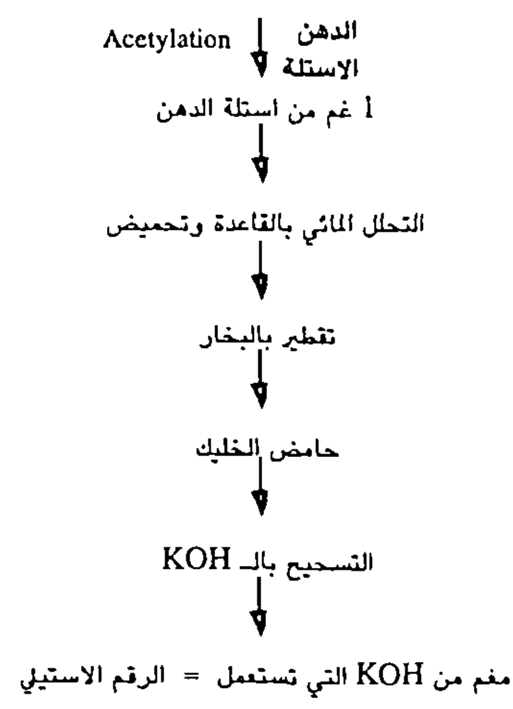
مغم KOH لقياس 1 غن دهن

(س ـ ص)

رقم التصبن

ج ـ رقم الاستيل Acetyl Number

ويعرف بعدد ملغرامات الـ KOH اللازمة لمعادلة حامض الخليك الناتج من التحلل المائي لغرام واحد من الدهن بعد تحويله إلى مشتق استيلي Acetyl Derivative. ويعطي هذا الرقم فكرة عن مدى وجود الأحماض الدهنية الهيدروكسيلية ويوضح المخطط التالي عملية حساب الاستلة .



د ـ رقم البيروكسيد Peroxide Number

ويعرف بعدد السنتمترات المكعبة من محلول 0.02 عياري من ثيوكبريتات الصوديوم اللازمة لمعادلة اليود الناتج من معادلة 1 غم من المادة الدهنية بيوديد البوتاسيوم في وسط حامضي.

هـ ـ الرقم اليودي Iodine Number

ويتمثل هذا العدد بعدد الغرامات من اليود التي يتم امتصاصها من قبل 100 غم

من الدهن أو الزيت والذي يوضح بقـيـاسـه درجـة عـدم التشبع أو مقدار الاحماض الدهنية غير المشبعة، فبالرقم اليودي بين 178 - 204 تمثل تلك الأحماض في زيت بذرة الكتـان، أمـا الأحماض غير المشـبـعة في زيت القطن فتمثل بالرقم اليودي 105 - 119 ويختلف من زيت إلى آخـر مـعـتـمـداً على مقدار كمية الأحماض الدهنية غير المشبعة (تمتلك الزيوت النبـاتيـة أرقـامـاً عالية فكلما ارتفعت قيمة الرقم اليودي دل ذلك على عـدم تشـبـع الأحماض الدهنيـة، أمـا إذا انخفضت قيمة الرقم اليودي، فيدل ذلك على تشبع الأحماض الدهنية).

$$R—CH=CH—COOH + I_2$$

$$\downarrow$$

$$R—CHI—CHI—COOH$$

جدول (4 - 6)

الرقم النووي وعدد الأواصر المزدوجة لبعض الأحماض الدهنية

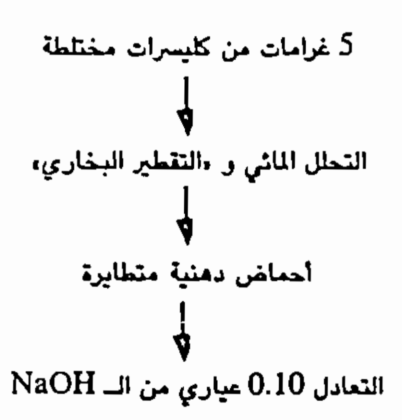
الحامض الدهني	الرقم اليودي	عدد الأواصر المزدوجة
المشبع	صفر	صفر
حامض الاوليئك Oleic	90	1
حامض اللينوليك Linoleic	181	2
حامض اللينولينك Linolenic	274	3

إن مـعدل الرقم الأيودي لشـحوم الانسان تحت الجلد 65 (واطئاً). بـينما تبلغ في شحوم الكبد 135 بسبب احتوائها على درجة عالية من الأحماض الدهنية غير المشبعة:

$$CH=CH- \longrightarrow \underset{|\atop I}{CH}—\underset{|\atop I}{CH}$$

طرق قياس الاحماض الدهنية المتطايرة Volatile Fatty acids

تعتمد طريقة تقدير قيمة الاحماض الدهنية المتطايرة على تحليل مقدار معين من الزيت أو الدهن وباستعمال القاعدة ثم بعدها يضاف حامض معدني (حامض الكبريتيك) إلى ناتج التحليل، ويتم فصل الأحماض المتطايرة الناتجة بتقطيرها في تيار من بخار الماء، حيث تصبح أحماضاً قابلة للذوبان والتي يمكن قياسها بطريقة Reichert - Meissel (R. M) التي تعرف بمقدار الاحماض الدهنية المتطايرة القابلة للذوبان في الماء (عدد السنتيمترات المكعبة من KOH اللازمة لمعادلة الاحماض الدهنية المتطايرة الذائبة بالماء الناتجة من تصبن Saponification خمسة غرامات زيت أو دهن. أما الاحماض التي لم تذوب في الماء فيمكن تقديرها بطريقة Polenske Number وهي مقدار الأحماض الدهنية المتطايرة غير الذائبة بالماء والتي تعرف بعدد السنتمترات المكعبة من الـ KOH اللازمة لمعادلة هذه الأحماض والناتجة من تصبن خمسة غرامات زيت أو دهن ويعطي فكرة عن مدى وجود الاحماض الدهنية الطيارة (ذات السلسلة القصيرة) في المادة الدهنية، بينما Polenske يعطي فكرة عن مدى وجود الأحماض الدهنية الطيارة في المادة الدهنية.



جدول (4 - 7)

قياس الصفات العامة للدهون

الطريقـــــة	نوع القياس
الرقم الحامضي	الأحماض الدهنية الحرة ـ التزنخ
الرقم Reichert Meissel	الأحماض الدهنية قصيرة السلسلة
الرقم اليودي	نسبة عدم التشبع
الرقم (التصبن)	معدل الحجم الجزيئي للأحماض الدهنية
الرقم الاستيلي	الأحماض الدهنية الهيدروكسيلية

جدول (4- 8)

الثوابت الكيميائية لبعض انواع الدهون

الدهـــــن	الرقم الحامض	Reichert Meissel	الرقم التصبن	الرقم اليودي	الرقم الاثيلي
دهن الخنزير	0.8 - 0.5	0.8 - 0.5	203 - 195	65 - 47	2.6
الشحم البشري	-	0.55 - 0.25	198 - 194	69 - 65	-
الشحم البقري	0.25	-	200 - 196	42 - 53	8.6 - 2.7
دهن الزبد	35 - 4.5	35 - 17	230 - 210	28 - 26	8.6 - 1.9
زيت الاثيل	1 - 0.3	1.5 - 0.6	196 - 185	88 - 79	11 - 10
زيت بذور القطن	0.9 - 0.6	095	196 - 194	111 - 103	2.5 - 21
زيت الكتان	3.5-1	095	195 - 188	202 - 175	4.0
زيت الخروع	0.8 - 0.12	1.4	183 - 175	84	150 - 146

مسالة :

تم تفـاعل زيت الزيتون مع الايودين (Iodine) حـيث امتص 578 مـغم من I_2 بواسطة 680 مغم من الزيت.

أ ـ ما هو عدد الأواصر المزدوجة في جزيئة الكليسيرايد الثلاثي ؟

ب ـ ما هو رقم اليود للزيت ؟

الحل :

أ ـ إن كل مول من I_2 يضاف إلى الآصرة المزدوجة

$$\frac{0.578 \text{ غم } I_2}{0.680 \text{ غم من الزيت}} = \frac{\text{وزن } I_2 \text{ بالغرام}}{884 \text{ غم من الزيت}}$$

$$\text{الوزن (غم) الممتص} = \frac{(0.578)\ (884)}{(0.680)}$$

$= 751.4$ غمI_2 / مول من الزيت

الوزن الجزيئي $I_2 = (126.9)\ (2) = 253.8$

$$\frac{75.4 \text{ غم } I_2}{253.8 \text{ غم/مول}} = 2.96 \text{ مول } I_2 \text{ / مول من الزيت}$$

لذا، فالمعدل لذلك أن هناك ثلاثة أواصر مزدوجة/جزيئة كليسيرايد ثلاثي

ب ـ يعـرف رقم اليود بانه عبارة عن 1 غم من الايودين الممتص/100 غم من الزيت أو الشحم.

$$\text{رقم اليود} = \frac{751.4}{884} \times 100$$

$= \boxed{85}$

مسالة :

250 ملغم من زيت الزيتون النقي يتطلب 47.5 مغم من الـــ KOH للحصول على تصوبن كامل. احسب معدل الوزن الجزيئي للكليسيرايدات الثلاثية في زيت الزيتون ؟

الحل :

$$\text{كمية الـــ KOH المطلوبة} = \frac{47.5 \times 10^{-3} \text{ غم}}{56 \text{ غم/مول}} = 8.482 \times 10^{-4} \text{ مول}$$

ويتطلب ثلاثة مولات من الـ KOH لكل مول من الكلسيرايد الثلاثي :

$$\therefore \text{كمية الكلسيرايد الثلاثي} = \frac{10^{-4} \times 8.482}{3} = 10^{-4} \times 2.827 \text{ مول}$$

$$\text{عدد المولات} = \frac{\text{الوزن (غم)}}{\text{الوزن الجزيئي}}$$

$$\text{إذ الوزن الجزيئي} = \frac{\text{الوزن (غم)}}{\text{الوزن المولات}}$$

$$\therefore \text{الوزن الجزيئي} = \frac{10^{-3} \times 250}{10^{-4} \times 2.827} = 884$$

أو بصورة عامة :

$$\text{الوزن الجزيئي (المعدل)} = \frac{1000 \times 56 \times 3}{\text{عدد التصوبن}}$$

$$= \frac{168.000}{\text{عدد التصوبن}}$$

$$\text{عدد التصوبن لزيت الزيتون} = \frac{47.5 \text{ ملغم من الـ KOH}}{0.25 \text{ غم من الزيت}}$$

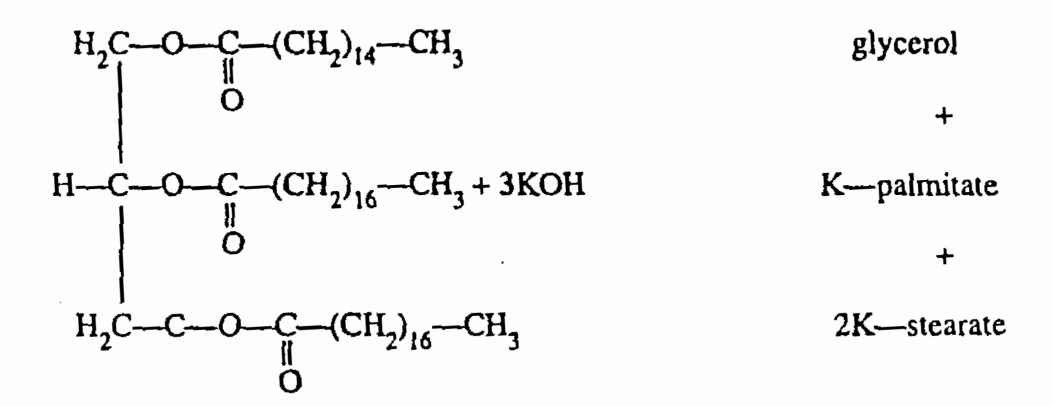
$$= \frac{168.000}{190} = 884$$

مسالة :

أحسب رقم التصوبن للـ Palmitodistearin

الحل :

يوضح الشكل التالي تصوبن الـ Palmitodistearin :



يتطلب للتصوبن ثلاثة مولات من KOH وكما هو معروف فرقم التصوبن عبارة عن عدد الملغرامات من الـ KOH لتصوبن 1.0 غم من الكليسيرايد الثلاثي.

الوزن الجزيئي للـ KOH = 56

الوزن الجزيئي للـ Palmitodistearin = 862

(3) (56) = 160 غم من KOH المطلوب لتصوبن 862 غم من الكليسيرايد الثلاثي.

$$\frac{168 \times 10^3 \text{ ملغم من الـ KOH}}{862 \text{ غم من الكلسيرايد الثلاثي}} = 194.9 \text{ ملغم من الـ KOH/غم من الكلسيرايد الثلاثي}$$

إذا رقم التصوبن = 194.9

5 - 4 الفوسفو كليسيريدات Phosphoglycerides

هناك أنواع مختلفة من الكليسيريدات التي يدخل في تركيبها حامض الفوسفوريك وغيرها من المكونات في إحدى المجموعتين الهيدروكسيليتين الموجودتين في الموقع الفا أو ميتا، ويسمى المركب الأولي بحامض الفوسفاتيدك "Phosphatidic acid"، ترتبط مجموعة الفوسفات مع مجموعة هيدروكسيلية طرفية للكليسيريد الثنائي.

تتكون من حامض الفوسفاتيدك مركبات استيرية مختلفة تسمى بالفوسفاتيدات (Phosphatides)، حيث ترتبط مجموعة الفوسفات مع مركبات نتروجينية مثل الكولين

والسيرين والايثانول امين فيسمى الفوسفاتيديل كولين باللسيثين Lecithin.

توجد الدهنيات الفوسفاتية في الأغشية الخلوية وهي كما ذكرنا استرات حامض الفوسفاتيدك مع الكولين والايثانول امين والسيرين والاينوسيتول، بينما الكارديولبين أحد المكونات الأساسية للغشاء المايتوكوندري ويتكون من جزيئات حامض الفوسفاتيدك ترتبط بالجسر الكليسرولي "Glycerol bridge".

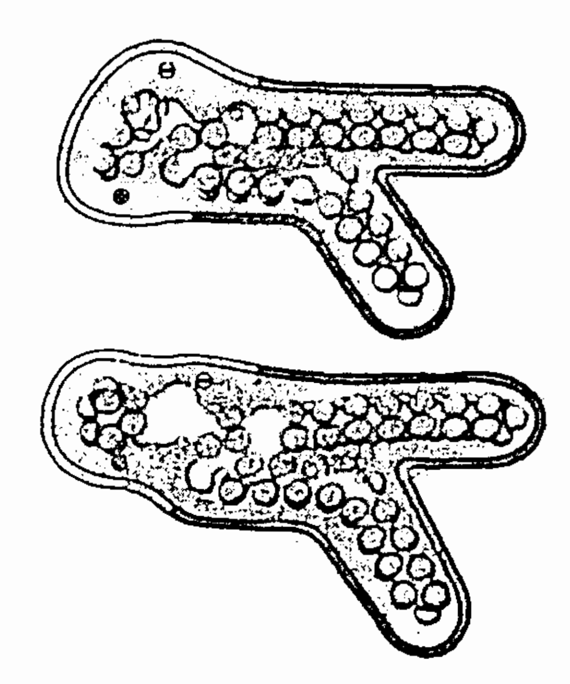
لهذه الدهون أهمية فسلجية داخل الجسم وهي توجد بصورة عامة في جميع الأنسجة الحيوانية وخاصة المخ والاعصاب والقلب والكبد وصفار البيض.

تضم الفوسفو كليسيريدات الثلاثة الرئيسية في جزيئاتها وحدات من الكولين (Choline)، والايثانول امين (Ehanol amine) أو السيرين لتكون المركبات التالية :

أ ـ الفوسفاتيديل كولين (ليسيتين).

ب ـ الفوسفاتيديل ايثانول امين.

ج ـ الفوسفاتيديل سيرين.



Phosphatidyl ethanolamine (cephalin)

Phosphatidyl choline (lecithin)

4 - 5 - 1 الفوسفاتيدات الخالية من النتروجين

1 - الكليسرول ثنائي الفوسفاتيديل Phosphatidyl glycerols

تنضم هذه المركبات الفوسفاتية الموجودة في الطبيعة إلى تلك المجموعة التي لا تحتوي على المكون النتروجيني ويشمل تركيبها الجزيئي :

أ ـ الكليسرول.

ب ـ حامض الفوسفاتيدك (جزيئتان).

ج ـ الحامض الدهني.

```
RCOOCH2                                         H2COOCR
   |                                               |
RCOOCH      O                               O    HCOOCR̄
   |        ||                              |      |
H2CO—P—OH2C—CHOH—CH2O—P—OCH2
            |                               |
            O                               Ō
```

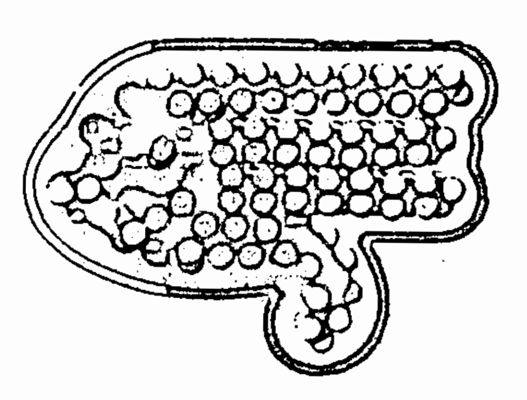
Diphosphatidyl glycerol

ومن الأمثلة على هذا النوع من الفوسفاتيدات الكارديوليين (Cardiolipin) المستخرجة من الأنسجة القلبية ويتميز هذا النوع بصفاته المناعية التي تستعمل لتشخيص مرض السفلس والكارديوليين يوجد بكميات قليلة في النباتات، وهي مركبات تحتوي على جزيئة من الكليسرول مع جزيئتين من حامض الفوسفاتيدك.

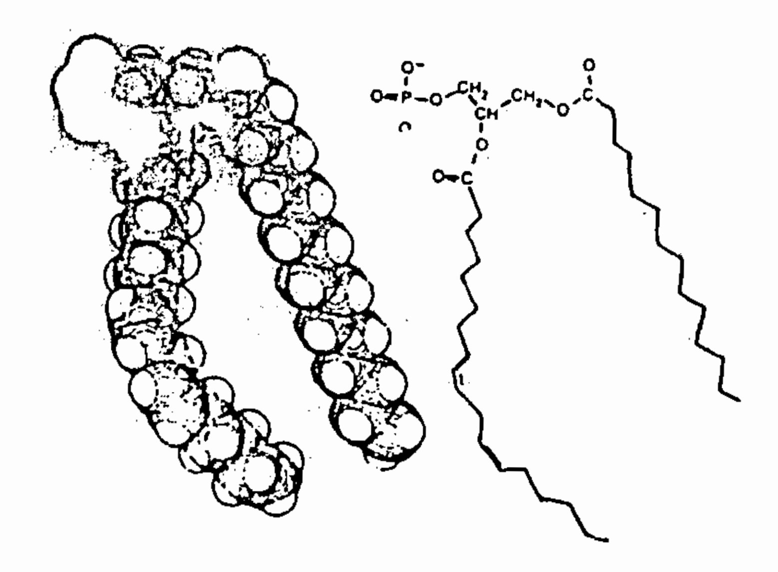
2 - الفوسفاتيدك الاحادي الكليسرولي Monophosphatidyl glycerol

وهي مركبات موجودة في النباتات تحتوي على جزيئة واحدة من حامض الفوسفاتيدك (Phosphatidic acid)، وعند تحللها المائي تولد الكليسرول والأحماض الدهنية وحامض الفوسفوريك.

Cardiolipin



Phospatidic acid



$$\begin{array}{l} \qquad\qquad\quad CH_2—O—CH_2CH_2R_1 \\ \quad O \qquad\quad | \\ R_2—\overset{\|}{C}—O—C—H \qquad O \\ \qquad\qquad\quad | \qquad\qquad \| \\ \qquad\qquad\quad CH_2—O—P—OX \\ \qquad\qquad\qquad\qquad\quad | \\ \qquad\qquad\qquad\qquad\quad O^- \end{array}$$

Phospboilipid with an alkyl ether

$$\begin{array}{l} \qquad\qquad\qquad\qquad\quad H \;\; H \\ \qquad\qquad\qquad\qquad\quad | \;\;\; | \\ \qquad\qquad\quad CH_2O—C{=}C—R_1 \\ \quad O \qquad\quad | \\ R_2—\overset{\|}{C}—O—C—H \qquad O \\ \qquad\qquad\quad | \qquad\qquad \| \\ \qquad\qquad\quad CH_2—O—P—OX \\ \qquad\qquad\qquad\qquad\quad | \\ \qquad\qquad\qquad\qquad\quad O^- \end{array}$$

Phosphoilipid with an alkenyl ether

Phospholipids with alkyl or alkenyl ether substituent

$$CH_2OC(=O)R_1 \quad HC-O-C(=O)R_2 \quad CH_2OP(=O)(O^-)-OCH_2CH_2N(CH_3)_3$$

Phosphotidyl choline

Zubay عن

جدول (4 - 9)

الاصناف الرئيسية للدهنيات الفوسفاتية عن Zubay

$$CH_2O-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-R_1 \quad R_2\overset{O}{\overset{\|}{C}}O-CH \quad CH_2O-\overset{O}{\overset{\|}{P}}(O)-OX$$

X Substituent		
Name of X—OH	Formula of X	Name of Phospholipid
Water	—H	Phosphatidie acid
Choline	$-CH_2CH_2\overset{+}{N}(CH_3)_3$	Phosphatidylcholine (lecithin)
Ethanolamine	$-CH_2CH_2\overset{+}{N}H_3$	Phosphatidylethanolamine
Serine	$-CH_2-CH(\overset{+}{N}H_3)(COO)$	Phosphatidylserine
Glycerol	$-CH_2CH(OH)CH_2OH$	Phosphatidylglycerol
Phosphatidyl glycerol	$-CH_2CH(OH)-CH_2-C-P(O)(O^-)-O-CH_2-CH(OOCR)-CH_2OCR$	Diphoshatidyglycerol (cardiolipin)

تابع جدول (4 - 9) :

X Substituent		
Name of X—OH	Formula of X	Name of Phospholipid
myo-Inositol		Phosphatidylinositol

4 - 5 - 2 الفوسفواينوسايتيدات Phosphoinositides

وهو الفوسفوتيدات التي لاتحتوي على المشتق النتروجيني لحامض الفوسفايتديك[1] بل على الاينوسيتول (Inositol) وعند تحلل هذا المركب مائياً يتكون :

أ ـ 1 مول كليسرول.

ب ـ 1 مول من الكحول ذي الست مجاميع هيدروكسيلية (Myoinositol).

ومن الأمثلة على هذه المركبات :

L - Phosphatidyl - Myo - Inositol 4.5 - Diphosphate :

L - Phosphatidyl - Myo - Inositol 4.5 - Diphosphate

α ـ الليسيثين Lecithin

ينتشر الليـسـيـثين في جميع أنسـجة الكائنات الحية وتوجد نسبة واضحة منه في المخ والكبـد والكلى وصفار البيض كما يحتوي زيت الذرة على الليسيثين وكذلك في فول الصويا. ويمكن تشبيه الليسيثين بالفوسفولبيدات أحادية الامين (Monoamino Phos- phatides) حـيث يوجـد الفسفور والنتروجين بنسبة 1 : 1، ومن الناحـية الكيميائية يسمى هذا المركب بالفوسفو تيديل كولين (Phosphatidyl choline).

$$\begin{array}{l} R-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O-CH_2 \\ \bar{R}-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O-CH \\ CH_3-\underset{CH_3}{\overset{CH_3}{N^+}}-CH_2CH_2O-\underset{OH}{\overset{O}{\overset{\|}{P}}}-O-CH_2 \end{array}$$

Lecithin

$$\begin{array}{l} CH_2O-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-R \\ R-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O-CH \\ CH_2-O-P-\underset{O}{\underset{\|}{\overset{\bar{O}}{O}}}-CH_2CH_2N^+(CH_3)_3 \end{array}$$

L - α - Phosphatidyl Choline

ويعـتبر الليـسـيـثين منظفـاً قـوياً جداً، قادر على إضعاف التوتر السطحي للماء، وكـذلك يعـتبر من العوامل المستحلبة إذ يساعد على ذوبان الكولستيرول في المرارة. كما يلعب دوراً هامـاً في العـمليات الحياتية للدهون، وينظم عملية التنافذ في أغشية الخلايا ويساهم بكثرة ضد تراكم الشحوم في الكبد.

أما صفات الليسيثين فهي عديدة، فهو على شكل مادة برافينية عديمة اللون يتأثر بسرعة في الضياء والهواء حيث يتحول إلى مادة غامقة تذوب في جميع المذيبات العضوية عدا الاسيتون، وتتميز كذلك بكونها مادة شمعية لزجة القوام تكون محلولاً غروياً مع الماء.

كما يتميز الشكل المتعادل (الشكل الزويتريوني) لهذا المركب بكونه ناتج عن وجود قاعدة قوية وحامض قوي، وبدرجات الأس الهيدروجيني تتأين كلا المجموعتين.

$$\begin{array}{l} CH_2O-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-R \\ R-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O-CH \\ CH_2-O-\underset{O}{\underset{\|}{\overset{O^-}{\overset{|}{P}}}}-O\,CH_2CH_2\overset{+}{N}(CH_3)_3 \end{array}$$

مخفف Dilute HCl

$$\begin{array}{l} CH_2O-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-R \\ R-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O-CH \\ CH_2-O-\underset{OH}{\underset{|}{\overset{O}{\overset{\|}{P}}}}-OH \end{array}$$

حامض الفوسفاتيديك

$$(CH_3)_3\overset{+}{N}-CH_2CH_2OH$$

HCl

$$\begin{array}{l} CH_2OH \\ HO\,CH \\ CH_2O-\underset{OH}{\underset{|}{\overset{O}{\overset{\|}{P}}}}-OH \\ + \\ 2R\,COOH \end{array}$$

يتحلل الليسيثين مائياً مكوناً اللايسوليسيثن Lysolecithin ذا المفعول السام في

الجسم يعمل على تشقق كريات الدم الحمراء بفعل إنزيم خاص يوجد في الدماغ والبنكرياس يزيل أحد الاحماض الدهنية ويعتقد أن السمية الموجودة في سم الأفعى تعود إلى وجود الإنزيم Phospholipase A الذي يقوم بتحويل :

اللسيثين

↓ التحلل بالانزيم Phospholipase A

$$\begin{array}{l} CH_2-O-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-(CH_2)_X-CH_3 \\ | \\ HOCH \\ | \\ CH_2-O-\overset{\overset{O}{\|}}{\underset{\underset{O^-}{|}}{P}}-CH_2-CH_2-N^+(CH_3)_3 \end{array}$$

اللايسولسيثين

الكيفالين Cephalin

وهو تابع إلى مركبات الفوسفاتيديل المسماة بـ Phosphatidyl serine أو Phosphatidyl Ethanolamine وهي لا تذوب في الاسيتون فتختلف عن الـ Lecithin في عدم قابليتها على الذوبان في الكحول، إلا أنها تذوب في الايثر والكلوروفورم وتكون مع الماء محلولاً هلامياً ويوجد في انسجة المخ وانسجة أخرى، وتوجد في جميع الانسجة وبصورة خاصة مركزة في الدماغ والأنسجة العصبية.

$$\begin{array}{l} R-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-O-CH_2 \\ R-\overset{\|}{C}-O-CH \\ HC(CH_3)-CH_2O-\overset{\overset{O}{\|}}{\underset{\underset{OH}{|}}{P}}-O-CH_2 \end{array}$$

Phosphatidyl serine

$$
\begin{array}{l}
RCOO\,CH_2 \\
\quad\;\; | \\
R'COO\,CH \qquad\quad O \\
\quad\;\; | \qquad\qquad\quad \| \\
\quad\; H_2C—O—P—O—CH_2CH_2N^+H_3 \\
\qquad\qquad\qquad\;\; | \\
\qquad\qquad\qquad\;\; \bar{O}
\end{array}
$$

Phosphatidyl Ethanol Amine

وتتأين هذه المركبـات في درجـة الأس الهيـدروجـيني الفسيولوجي ونظراً لكون مجمـوعـة الامين الأوليـة أقل قـاعـدية من المجـموعة الامونية الرباعية، لذا فإن هذين المركبين أكثر حامضية من الفوسفاتيدات التي تحتوي على الكولين.

4 - 5 - 3 البلازمولوجينات Plasmalogins

تحـتوي هذه الدهون الفوسفاتية على قاعدة نتروجينية واحدة من نوع الكولين أو الايـثـانـول امين أو السيرين، وتوجـد بها وحـدة الدهايد ذات سلسلة طويلة ويرتبط الالدهايد مع مجموعتي كحول الكليسيرول. وتنتشر هذه المركبات في أنسجة الحيوانات المخـتلفة وتختلف عن السيفالين Cephalin والليـسـيثين بوجود آصرة ايثرية بالشكل التالي، حيث الايثر الالكيلي متصل بالموقع الالفا للكليسرول.

$$
\begin{array}{l}
\qquad\qquad CH_2—O—CH{=}CH—R_1 \\
\qquad\qquad\;\; | \\
R_2—C—O—CH \\
\qquad\qquad\;\; | \\
\qquad\qquad CH_2—O—P(=O)(\bar{O})—O—CH_2—CH_2—\overset{\oplus}{N}(CH_3)_3
\end{array}
$$

البلازمالوجين

وكـذلـك تختلف في كـون رابطة الاسـيـتـال الدهايد للحـامض الدهني تحل محل مجموعتي الحامضين الدهنيين.

ويمكن تعريف البلازمولوجين بانها تلك المركبات الفوسفاتية التي فيها الايثر غير المشبع على الموقع α عـوضـاً عن الاحماض الدهنيـة، وأن الآصرة الايثرية ثابتة تجاه درجـات الأس الهيـدروجـيني العـاليـة وتعطي هذه الآصرة مجموعة الالدهايد وهناك

أنواع عديدة من البلاسمولوجين منها التي تحتوي :

1 - الفوسفاتيديل ايثانول امين.

2 - الفوسفاتيديل كولين.

3 - الفوسفاتيديل سيرين.

ووجد أن الايثانول امين هو الاكثر انتشاراً في الدهنيات الفوسفاتية. ويكون البلازمولوجين بالطبيعة بشكل - L ويكثر في الدماغ والقلب ولا يوجد في الانسجة غير الحيوانية.

$$CH_3-(CH_2)_n-CH=CH-O-CH_2$$

$$CH_3-(CH_2)_n-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O-CH$$

$$H_2C-O-\overset{O}{\overset{\|}{P}}(O^{\ominus})-\boxed{\text{Choline / Serine / Ethanolamine / Inositol}}$$

إلا أنه أحد المكونات الرئيسية للأنسجة العصبية.

مكونات البلازمالوجين

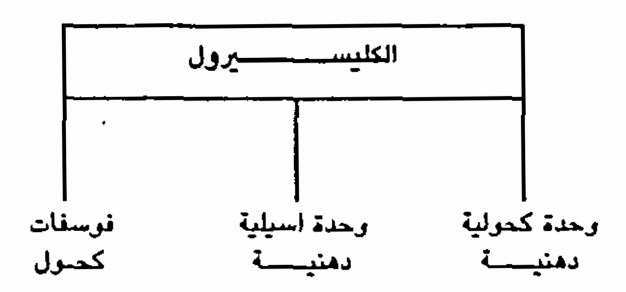
1 ـ الكليسيرول.

2 ـ كحول دهني.

3 ـ الاسيل الدهني.

4 ـ فوسفات.

5 ـ كحول.



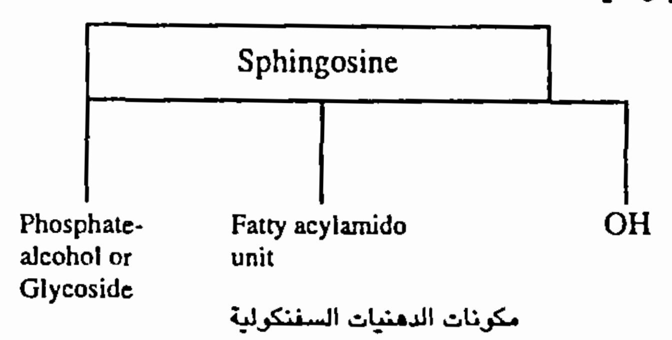
4 - 6 الدهنيات السفنكولية Sphingolipids

هناك نوعان من الدهنيات يعتمدان على الاسفنكوسين ويكونان الجدران الخلوية :

1 ـ السفنكومايلين Sphingomyelins



ب ـ السيربيروسيدات Cerebrosides



مكونات الدهنيات السفنكولية

الدهنيات السفنكولية Sphingolipids

وتحتوي هذه المشتقات على الكحول الاميني "Sphingosine" وسلسلة كربونية طويلة لها مجموعة امين وكحول ويرتبط الحامض الدهني بمجموعة الكحول الثاني، أما السكريات فترتبط مع مجموعة الكحول الأولية علماً بأن هذه الدهون لا تحتوي على الكليسيرول.

توجد هذه الدهنيات في المصادر الحيوانية، بينما المصادر النباتية تحتوي على مشتقاتها غير المشبعة، وتتميز ايضاً في الاغشية الحيوانية. ويسمى المركب الاساسي لها بـ Sphingenine (يطلق عليه Sphingosine).

$$\begin{array}{l} \quad\;\; OH \\ \quad\;\; | \\ H-C-CH=CH\,(CH_2)_{12}\,CH_3. \\ \quad\;\; | \\ H_2N-CH \\ \quad\;\; | \\ \quad\;\; CH_2OH \end{array}$$

4-Sphingenine. (Sphingosine)

وأكثر المركبات انتشاراً في الدهنيات السفنكولية هي "Sphingosine" ذات الـ 18 ذرة كربون، وهناك متناظرات لهذا المركب ذات ذرات كربون C17 ، C19 ، C20 توجد في السفنكولبيدات الموجودة في الطبيعة.

ويمكن تقسيم الدهنيات السفنكولية إلى مجموعتين أساسيتين :

(أ) الدهنيات السفنكوفوسفاتية Sphingophospholipids

لبيدات فوسفوتية تحتوي على السفنجوسين مثل Sphing myelin

الجدول (4 - 10)

Structure	Systematic Name	Common Name
$CH_3(CH_2)_{12}CH{=}CH{-}CH(OH){-}CH(NH_3^+){-}CH_2OH$	4-Sphingenine	Sphingosine
$CH_3(CH_2)_{12}CH_2CH_2{-}CH(OH){-}CH(NH_3^+){-}CH_2OH$	Sphingenine	Dihydroshingosine
$CH_3(CH_2)_{12}CH_2CH(OH){-}CH(OH){-}CH(NH_3^+){-}CH_2OH$	4-Hydroxy Sphinganine	Phytosphingosine

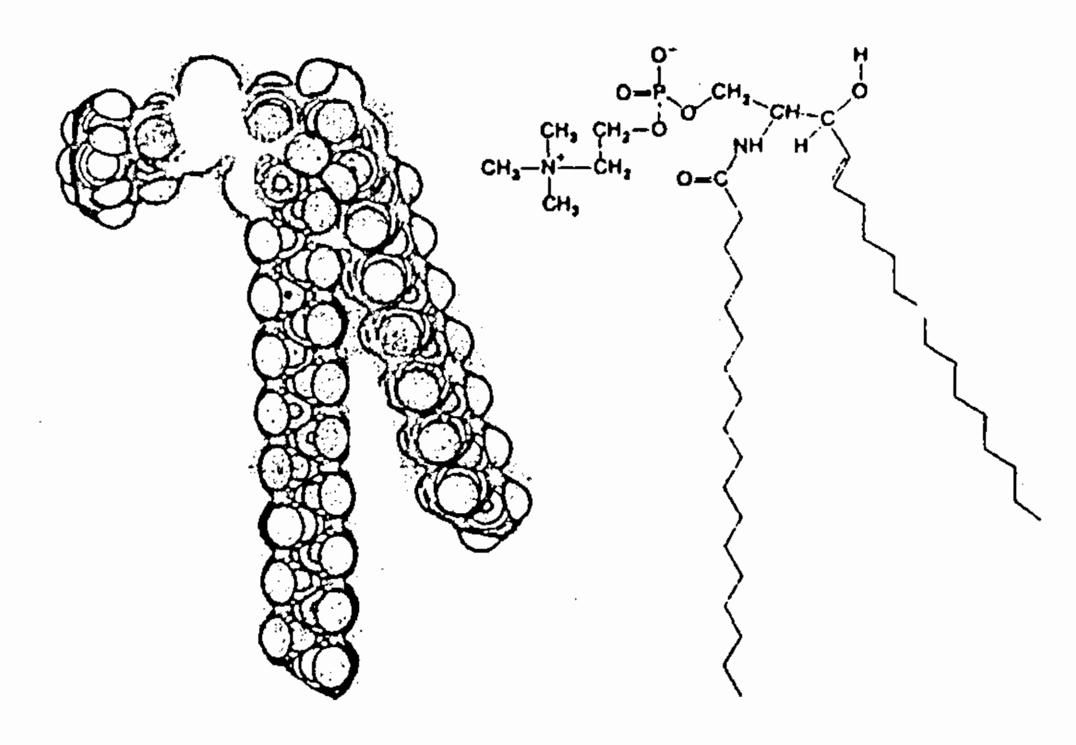
ويعتقد إضافة إلى ما ذكرناه أن السفنكومايلينات في الدماغ تحتوي على السفنكوسين غير المتشبع المسمى بديهايدرو سفنكوسين.

إن الوحدات الاسيلية في جزء اسيل اميدو للدهنيات السفنكولية ليست أحماض دهنية اعتيادية موجودة في الدهون المتعادلة.

فالحامض الدهني (28 ذرة كاربون المسمى بحامض لكنوسيرك) يدخل في تركيب

الاسفنكومايلين وواحد في السيربروسيدات :

$CH_3 (CH_2)_{22} CO_2 H$ حامض لكنوسيرك



التركيب البنائي للسفنكومايلين

(ب) الدهنيات السفنكو كاربوهيدراتية Sphingolycolipids

(الدهنيات السكرية)

وهي من مشتقات السيرامايد وتختلف عن السفنكومايلين "Sphingomyelins" بعدم احتوائها على الفسفور والقاعدة النتروجينية الإضافية، ولكنها تحتوي على مول واحد أو أكثر من الكاربوهيدارت. وتتجمع هذه المركبات بصورة غير اعتيادية وبكميات كبيرة في بعض الأمراض التي يحدث فيها اضطرابات في العمليات الحياتية للدهنيات:

أ ـ السيربروسيدات Cerebrosides   ب ـ الكانكليو سايدات Gangliosides

ج ـ السيرامايد ذو السكريات المتعددة Ceramide Oligosaccharides

1 ـ السيروبروسيدات Cerebrosides

وهي ليست في الحقيقة دهنيات فوسفاتية بل دهنيات كاربوهيدراتية وهي مركبات متنوعة تتميز جميعها باتصال السفنكوسين والذي يرتبط مع مجموعتها الأمينية حامض دهني ومع المجموعة الكحولية الأولية يتحد السكر الذي قد يكون الكالاكتوز أو الكلوكوز، وتختلف هذه المركبات عن بعضها حسب نوع الحامض الدهني والسكر.

بعد تحلل هذه المركبات مائياً يتكون :

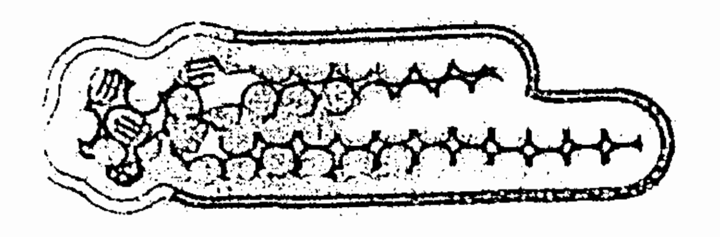
1 مول من السفنكوسين.

1 مول من الحامض الدهني.

1 مول من السكر الاحادي (الكالاكتوز هو الاكثر وجوداً من الكلوكوز).

وتتميز أحماضها الدهنية بكونها ذات سلسلة طويلة مثل حامض لكنوسيرك (Lignoceric).

توجد هذه المركبات في الانسجة الدماغية (المادة البيضاء في الدماغ) والكبد والطحال والكلية والرئة وصفار البيض وغيرها، فالسبروسيدات التي توجد في الدماغ تحتوي على الكالاكتوز، بينما التي توجد في الطحال تحتوي على الكلوكوز.



2 ـ الدهنيات الكاربوهيدراتية :

يوضح الشكل اعلاه السربروسايد Cerebroside الذي يحتوي على سكر واحد كما في الكلوكوز وقد يحتوي السربروسايد على الكالاكتوز، أما في الكانكليوسايدات فالهكسوز الموضح بالشكل يبدل بسلسلة من السكريات.

3 ـ السيراميدات Ceramides

وتطلق على مشتقات السفنكوسين التي منها أحماض اسيلية نتروجينية :

$$CH_3(CH_2)_{12}—CH=CH—\underset{\displaystyle OH}{CH}—\underset{\displaystyle NH—\overset{\displaystyle O}{\overset{\|}{C}}—R}{CH}—CH_2OH$$

Ceramide
سيرامايد

وتنتشر السيراميدات بصورة واسعة في الأنسجة النباتية والحيوانية وترتبط الأحماض الدهنية برابطة اميدية وتختلف هذه المركبات وفق أنواع الأحماض الدهنية الموجودة فيها.

وقد استخرج السيرامايد الذي يحتوي على الكبريت بشكل السلفات من أظافر وشعر البقرة والحصان.

4 ـ السفنكومايلينات Sphingomyelibs

وهي من المجاميع الرئيسية للدهنيات السفنكولية وتتكون من السفنكوسين التي يرتبط بها الحامض الدهني ويتصل حامض الفوسفوريك مع مجموعة الكحول الأولي ومع الكولين، حيث يتصل الحامض الدهني بمجموعة الأمين الموجودة على السفنكوسين، كما يتصل الفوسفور كولين ليكون السفنكوسين محل الكليسرول.

$$CH_3(CH_2)_{12}—CH=CH—\underset{\displaystyle OH}{\underset{|}{CH}}—\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH}}—CH_2OH$$

Sphingosine

D—Erythro— 1,3-DiOH—2—Amino—4—Trans—Octa Decane

والحامض الدهني وحامض الفوسفوريك والكولين.

تنتشر هذه المركبات بكثرة في الأنسجة العصبية وخاصة المخ، فالأحماض الدهنية الموجودة تتمثل بالستيرك والنرثونك والبالمتك.

5 ـ الكانكليوسيدات Gangliosides

وتتركب من حامض الميورامك Muramic والسفنكوسين Sphingosine واحماض دهنيـة (السـتيرك) وسكريات احـادية مـثل الكالاكـتـوز والكلوكوز او الكـلوكوزامين Glucosamine.

GqINAc-β-1,4-Gal-β-1,4-Glc-β-1,1-ceramide

(3 α2)

NouAc

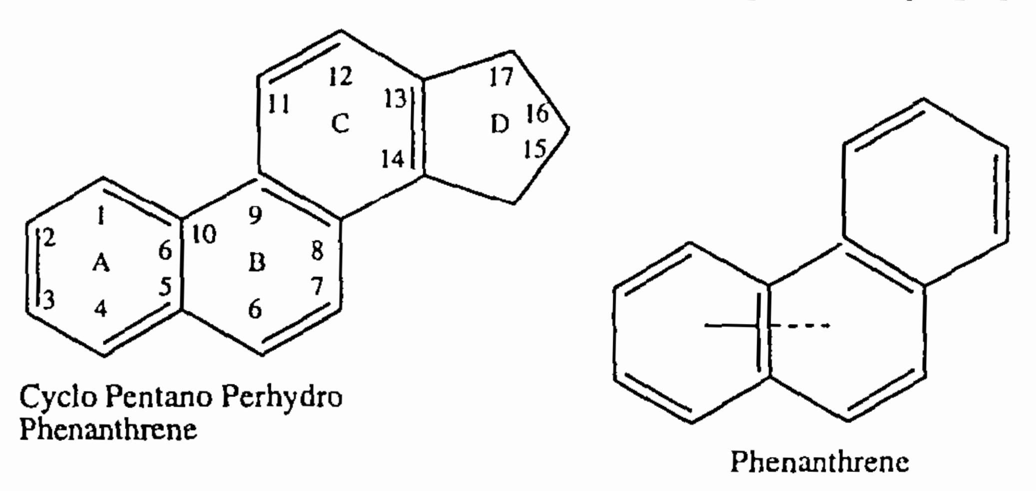
وقـد يـكون الجـزء الكاربوهيـدراتي لـلـكانكليـوسـايدات مـتكوناً من الكلوكـوز والكالاكتوز والـ N - acetyl galactose amine والـ N - acety neuraminic.

6-Sulfo-6-Deoxy-α-Glucosyl Diacyl glycerol

وهي سيرامـيدات مـعـقـدة تحـتوي على سكريات سداسية متعددة مع حامض السـيـالك ومـشتقات السكريات الامينية توجد بصور مركزة في خلايا العقد العصبية والجهاز العصبي المركزي (الجزء الرمادي).

7 - 4 الستيرويدات Steroids

وهي الكحـولات التي توجـد إما بشكل حر أو متحد مع الأحماض الدهنية بشكل استرات، وتتركب من حلقـة مشبعة من الـ Phenanthrene مكثـفة مع حلقة خماسية، ويطلق على حلقة الاستيرولات بـ Cyclo pentano perhydrophenanthrene .



Cyclo Pentano Perhydro Phenanthrene

Phenanthrene

وهي مـركـبات اليفاتيكية عالية الوزن الجزيئي تتضمن جزيئاتها نواة الستيرويد المميزة، وهي أربع حلقات مرقمة، ويرمز للحلقات بالحروف A ، B ، C ، D ، متصلة مع بعضها بوضعيات خاصة. ويشار إلى مجموعات المثيل الواقعة عند اتصال الحلقات باسم مجمـوعـات المثـيل الزاوية، وقد عرف بأن المجموعات المثيلية التي تقع في نفس المسـتـوى مع ذرات الهيدروجين بشكل «سز Cis» فـتـدعى عندئذ ببيتا، أما إذا كانت بشكل مـستوى متعاكس أي بشكل ترانس Trans فإنها تدعى بشكل الفـا، وأن أغلب السـتيرويدات الموجودة في الطبيعة من نوع ترانس Trans (الفـا) متصلة : ثلاث منها سداسية الأذرع، وأخرى خماسية. وتتميز العديد من الستيرويدات بنشاطات فسلجية

كبيرة وهي ذات تأثيرات مختلفة متشعبة (الهورمون الجنسي والفيتامين)، أحدهما ينشط القلب والآخر يمزق خلايا الدم الحمراء.

توجد هذه المركبات في جميع أشكال الكائنات الحية والنباتات والحيوانات والبكتيريا وهي من مشتقات هذه الحلقة التي تحتوي على 8 ذرات كربون غير متناسقة والتي من الممكن أن تكون 256 متناظر :

$$265 = 2^8$$

تلعب هذه المركبات أدواراً وظيفة مختلفة تعتمد على طبيعتها الكيميائية مثل الهورمونات، الفيتامينات، املاح الصفراء ...الخ.

وتقسم هذه المركبات إلى :

أ ـ ستيرويدات حيوانية مثل الكولستيرول.

ب ـ ستيرويدات نباتية مثل الاركوستيرول.

وكذلك يمكن تصنيفها (الـــ Steroids) إلى المركبات التالية :

أ ـ الاستيرولات Sterols (الكحولات الصلبة).

ب ـ أحماض الصفراء Bile (المرارة).

ج ـ الهورمونات الجنسية الذكرية.

د ـ الهورمونات الجنسية الأنثوية.

هـ ـ هورمونات الادرنيالية.

و ـ فيتامين D_2 Vitamine D_2 .

ز ـ سايونن Saponin .

ح ـ الكلايكوسيدات القلبية ومتفرقات مثل السايونن و digitoxigen .

ملاحظات عامة :

(1) توجد في ذرة الكربون (3) معوض أوكسجيني في جميع الستيرولات الطبيعية.

(2) وفي جميع الستيرولات مجاميع مثيلية ترقم بـــ C19 ، C18 موجودتان على التوالي بذرتي الكربون 10, 13.

(3) حلقة A في الستروجينات، اروماتيكية لذا فذرة الكربون 10 لا تحمل مجموعة مثيلية.

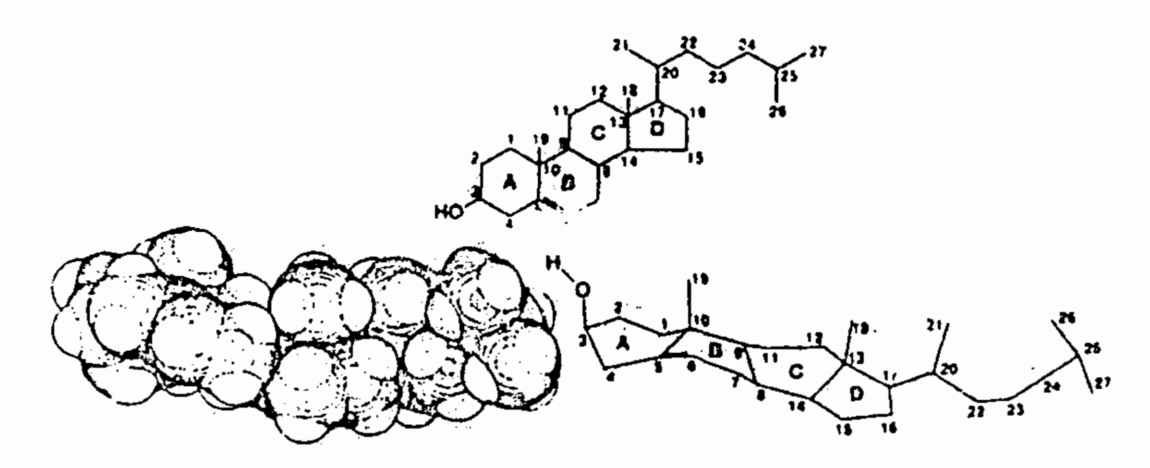
(4) المعوضات الاليفاتيكية في ذرة الكربون 17، تساهم في تقسيم الستيرويدات.

يمكن تقسيم الستيرويدات على أساس عدد ذرات الكربون في السلسلة الجانبية:

أ ـ في الستيرولات 8 , 9 , 10 ذرات كربون في السلسلة الجانبية.

ب ـ خمسة ذرات في أحماض الصفراء.

ج ـ 2 ذرات كربون في الستيرويدات وفي البروجستيرون.



إن جميع حلقات الكولستيرول تكون بشكل ترانس Trans وإن ذرات الهيدروجين ومجاميع المثيل المتصلة برؤوس جسور ذرات الكربون تكون معاكسة لجوانب الحلقات. يحتوى الكولستيرول على سلسلة جانبية تتألف من ثماني ذرات كاربون مشعبة.

4 - 7 - 1 الكولستيرول

وهو أحد الستيرولات الحيوانية المهمة وعبارة عن نواة مشبعة بـ Phenanthrene مع رابطة مزدوجة بين ذرتي الكربون 6.5 مكثفة مع حلقة خماسية مشبعة في الموقع 2:1 من اصل Phenanthrene ، كما تحتوي على مجموعة جانبية متصلة بذرة الكربون رقم 17 ومجموعتي الـ Methyi متصلين في الموقع 10 , 13 المرقمتان 18 , 19. إن

حلقات الكولستيرول كلها مشبعة فيما عدا وجود رابطة مزدوجة بين ذرتي الكربون 5 , 6 ومجموعة هيدروكسيل (بيتا) في الذرة 3.

يذوب الكولستيرول في الكلوروفوم والاسيتون والايثر ولكنه لا يذوب في الماء ويوجد في المخ، غدة فوق الكلية، الكلية الطحال، غشاء الكرات الدموية الحمراء وسائر الاغشية الخلوية.

وهو أكثر الستيرولات انتشاراً في الثديات ويعتبر الكوليستيرول أحد مكونات جدار الخلية كما إنه أحد المولدات لكثير من أنواع الستيرولات ويوجد في جميع الدهنيات الحيوانية كما في الدم والصفراء، ففي الدم توجد 3 / 2 الكولستيرول بشكل استر بالأحماض الدهنية غير المشبعة.

وعند اختزال الآصرة المزدوجة يتكون مركبان كلاهما يتواجد في الطبيعة مثل

أ ـ Coprostanol (B) ويوجد في الغائط.

ب ـ B - Cholestanol (B - all 0) ويوجد في الدم والأنسجة الأولى.

أما الـ 7 - Dehydrocholesterol فيتكون أثناء أكسدة الكولستيرول وتحتوي على زوج من الأواصر المزدوجة.

C_8H_{17} 8 HO

7 - Dehydro Cholosterol

CH_3 CH_3 CH_3 CH_3 CH_3 C—CH=CH—CH—CH—CH H CH_3 HO 3 5 7

3,B - Hydroxy - 24 - Methyl - $A^{5,7,22}$ Cholestatriene

4 - 7 - 2 الاركوستيرول Ergosterol

وهو من الاستيرولات النباتية الذي يحتوي على الاواصر المزدوجة في الجزيئة ويقوم بوظيفة توليد Vit. D2 ويشبه هذا المركب بعدد أواصره المزدوجة الـ 7 - Dehy-drocholesterol.

ويحتوي الاركوستيرول كبقية الاستيرولات النباتية أكثر من ذرات كربون في السلسلة الجانبية، إضافة إلى ذلك فهو يحتوي على آصرة مزدوجة في هذه السلسلة.

ونتيجة لوجود درجة واضحة من عدم التشبع في الحلقة B للاركوستيرول وكذلك لـ 7 - Dehydrocholesterol الذي يؤدي إلى تكوين مركبين بواسطة الاشعة فوق البنفسجية يملكان نشاط الفيتامين D، فالـ 7 - Dehydrocholesterol ولد فيتامين D_3 بينما الاركوستيرول ينتج $Vit.\ D_2$.

R = C8 H17 D_3 فيتامين
R = C9 H17 D_2 فيتامين

Vit. D_3

Cholic acid

Chenodeoxycholic acid

Deoxycholic acid

4 - 7 - 3 فيتامين D_2

يسبب النقص الحاصل في الفيتامين D2 مرض الكساح وهو مرض يصيب الاطفال والرضع يتميز بالترسيب الخاطىء لفوسفات الكالسيوم والنمو الضعيف للعظام.

4- 7 - 4 الاحماض الصفراء Bile Acids

من المركبات التي تحتوي على نواة الــ Sterols والموجودة في الصفراء والتي تتميز بأن السلسلة الجانبية المتصلة بذرة الكربون 17 قد أصبحت قصيرة (C_5) لانشقاقها بين ذرتي الكربون ورقم 24 , 25 إلى مجموعة كربوكسيلية وتقوم هذه الاحماض بدور المستحلب Emulsifier .

حامض الكولك Cholic

يوجد هذا الحامض في المرارة على هيئة ملح الصوديوم الذي يستعمل كمستحلبات قوية للمواد الدهنية. ملح حامض الكولك يشبه الصابون يحمل رأساً شديد القطبية ونهاية هيدروكاربونية.

وهي من أكثر الاحماض انتشاراً في صفراء الإنسان مع وجود اختلاف كبير بينه وبين الانواع الاخرى في كائنات حية اخرى.

$H_3\bar{N}—CH_2CH_2SO_3^-$
Taurine

Taurocholate

$H_3N—CH_2CO\bar{O}$
Glycine

Glycocholate

وتوجد أحماض الصفراء الرئيسية في الحيوانات العليا متحدة بشكل اميد مع الحامض الاميني الكلايسين Glycine او التورين مكونة حامض glycocholic وحامض الـ taurocholic.

$$C_{23}H_{26}(OH)_3\overset{O}{\overset{\|}{C}}—\overset{H}{\overset{|}{N}}—CH_2—CH_2—SO_3H$$

Taurocholic Cholytaurine حامض

حامض الكلايكوليك Glycocholic

وينتج من اتحاد حامض الكوليك بالحامض الاميني Glycine عن طريق الآصرة الاميدية.

$$C_{23}H_{26}(OH)_3\overset{O}{\overset{\|}{C}}—\overset{H}{\overset{|}{N}}—CH_2—COOH$$

Glyco cholic (Cholyl Glycine)

أو من اتحاد حامض الكوليك مع حامض التورين "Taurine"

4 - 7 - 5 الهورمونات الاستيرويدية Stereid Hermone

هورمونات الغدة الادرينالية Adrenal Hermones

مضاد التهاب المفاصل واحد هرمونات القشرة الادرينالية الثماني والعشرين

Cortisone

ويقوم هذا الهورمون بتنظيم ميزان الملح والماء وزيادة إعادة امتصاص أيونات وأيونات الكلور والبيكاربونات بواسطة الكلية التي تؤدي إلى زيادة حجم الدم وضغطه .

Aldosterone

الكورتيزول Cortisol

وهو المركب المولد لكثير من الاستيرويدات الهورمونية، ويحث عملية تكوين الكلوكوز من مواد غير سكرية.

Testosterone

الهورمونات الذكرية Testosterone

تعمل على ظهور المميزات الذكرية وعلى تنشيط بناء البروتينات مثل التستيرون وهي لا تحتوي على سلسلة جانبية.

ينظم هرمون التستيرون تنمية الأعضاء التناسلية وصفات الجنس الثانوية

التستيرون

وهو من الاندروجينات Androgens التي تحتوي على C_{19}، والذي يتولد في الخصيتين والذي لا يحتوي على سلسلة جانبية.

الهورمونات الانثوية :

البروجستيرون (هورمون الحمل) ويفرز بواسطة الجسم الاصفر.

Progesterone

Aldosterone (a mineralocorticoid)

Cortisol (a glucocorticoid)

Testosterone (an androgen)

Estradiol (an estrogen)

ويتركب حياتياً في سطح المبيض والمشيمة ويحتوي على ذرتي كربون في السلسلة الجانبية وتعمل على تهيئة النشاط المخاطي المبطن للرحم لاستقبال البويضة المخصبة والمحافظة على الحمل.

Estradiol 17 - β

ويصنع في المبيض ويتميز بحلقة A الارومـاتيكية والتي لا تحتوي في الذرة D على مجموعة مثيلية.

حبوب منع الحمل :

تتركب من :

أ ـ الاستروجين.

ب ـ البروجستين الصناعي Norethynodrel synthetic progestin.

H_3C OH C≡CH

O

H_3C OR C≡CH

R—H, Northindrone

R—C(=O)—CH, Norethindrone acetate

الديجستوكسيجينين Digitoxigenin

من الأدوية التي تستعمل لتنشيط الأنسجة القلبية تحتوي في تركيبها البنائي على حلقة لاكتون من نوع γ متصل بالذرة الكربونية 17.

Digitoxigenin

ويوجد في العديد من النباتات السامة فهو يحفز ميكانيكية العصب الرئوي المعدي ويزيد من ضربات القلب، وفي الجرع العالية يكون ساماً جداً.

4 - 8 التربينات

مركبات واسعة الانتشار وتشمل مركبات مختلفة منها الكافور والمطاط والأصباغ النباتية كالتي توجد في الطماطا والكاروتين في الجزر مولد فيتامين A، والفاينول "Phytol" الموجود في مادة الكلوروفيل والزيوت العطرية والسكويلين الذي يوجد في كبد سمك القرش، وكمركب وسطي في البناء الحياتي في داخل الجسم.

أقسام التربينات :

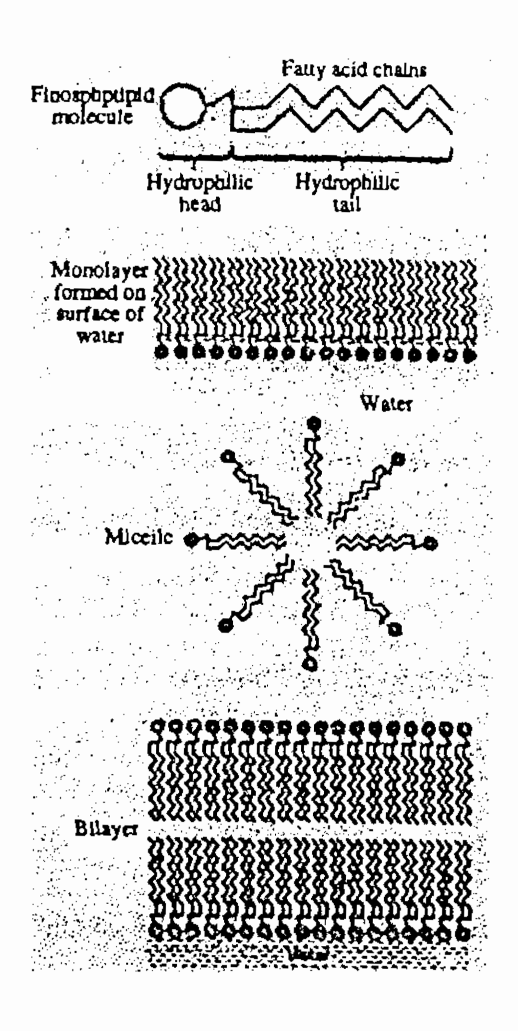
وتقسم هذه المركبات معتمدة على عدد وحدات Isoprene الموجودة في القسم .

الأمثلة	عدد وحدات Isoprene	عدد ذرات الكربون	القسم
Citral Menthone	2	10	Mmoterpenes
Farnesol bisarolene	3	15	Sesqurterpenes
Squalene Lanosterol	6	30	Diterpenes
Carotenoids	8	40	Tetraterpenes

وتوجد هذه المركبات باشكال زيوت اساسية مثل Citral ، Pinene ، Camphor ، Geraniol، والـ Menthane، كما تشكل التركيب الكيميائي للكاروتينات، Lycopene، فيتامين A والسكوالين (Squalene) في الحيوانات.

والفاتيول (Phytol) مثال على هذه المركبات مفتوحة السلسة والتي تتكون نتيجة التحلل المائي للكلوروفيل أما الـ Squalene فهو هايدروكاربون موجود في لبيدات بعض الفيروسات والتي تتكون أثناء التكوين الحياتي للكولستيرول.

وبوجود الماء، تكون الفوسفاتيدات الكليسرولية طبقات أحادية على سطح الماء.



$$CH_2=C(CH_3)-CH=CH_2$$

or $H_2C=C(CH_3)-CH=CH_2$ or

Isoprene

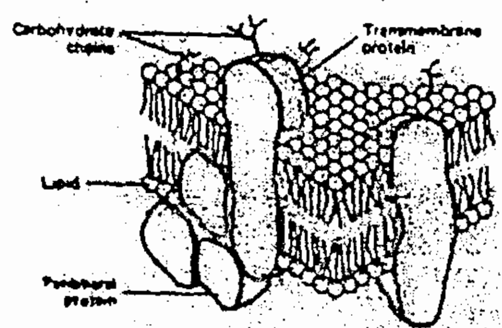
(a)

CH_3 CH_3 CH_3 CH_2OH CH_3 CH_3

Vitamin A

(b)

وتتكون من وحدات الايزوبرين "Isoprene" التي ترتبط مع بعضها بصيغة الرأس إلى الذيل، بحيث ترتبط وحدتان من الايزوبرين لتكونا "manoterpene" وأربعة تكون "diterpene" وستة لتكون "triterpene".



والمونوتربين (manoterpenes) مسؤولة عن رائحة وطعم بعض النباتات مثل الجيرانيول من الجيرانيوم والمنثول من النعناع. إن الطبقة المزدوجة تكون قوية بسبب قوى تجاذب هايدروفيلية هايدروثوبية ولا ينفذ الايونات والجزيئات المستقطبة (عائق غير قطبي). تحتوي الاغشية الحياتية على الدهنيات والبروتينات وتقوم البروتينات بتحفيز التفاعلات التي تقع على الغشاء. ويوضح الشكل المجاور نموذجاً للتركيب البنائي الغشائي (نموذج السائل الموازنيكي).

المصادر

1 - Biochemistry, Second edition Lubert Stryer, W. H. Freeman and Company, 1981.

2 - Lehninger, Prinnciples of Biochemistry Albert L. Lehninger, The Johns Hopkins University, Worth Publishers, Inc.

3 - Lipid Biochemistry an introduction M. I, Gurr and A. T. James, Third edition, 1980, Champman and Hall.

4 - Text Book of Biochemistry with clinical correlation Thomas M. Devlin, 1982, Wiley Medical Publication.

5 - Biochemistry, Geoffrey Zubay, Macmillan Publishing Company, Second edition, 1988.

الفصل الخامس

الكاربوهيدرات

5 - 1 تقديــم

5 - 1 - 1 وجود الكاربوهيدرات

من أكـثـر المركـبات العضوية الموجودة في النباتات والحيوانات انتشاراً فمنها سكر الـقـصـب والكلوكـوز والسليلوز والصـمـوغ والنشـا والكلايكوجين (التي تلعب دوراً أساسياً في خزن السكريات)، وتساهم في تكوين المكونات الأساسية في قشرة السرطان وجراد البـحـر (الكايتن مـثلا)، كما أنها تعتبر أنسجة مساندة للنباتات (السليلوز في الخـشب والقطن والكتـان)، فـهي من الناحـيـة الصناعية مواد أولية في صناعة الورق كـالسليلوز والمنسـوجات والدقيق الذى يصنع منه الخبز والبطاطا والرز والذرة كمثال لبعض الأطعمة. تبني المركبات الكاربوهيدراتية حياتها من ثاني أوكسيد الكربون والماء بواسطة عـمليـة التركيب الضوئي، كما أنها تعطي المذاق الحلو للأغذية، وتجهز الكائن الحي بالطاقـة الكيـمـيائية وتدخل في تركيب بعض الفيتامينات ومساعدات الأنزيمات والأحماض النووية، وتدخل في تراكـيب فصائل الدم وتراكيب أغشية الخلايا على شكل دهون سكرية وبروتينات سكرية.

تبنى الكاربوهيـدرات في النبـاتات الخضراء في عـملية التمثيل الضوئي والتي تعتمد على طاقة الشمس لتثبيت ثاني أوكـسيد الكاربون، ويمكن ذكر المعادلة التالية لتوضيح ذلك:

$$xCO_2 + yH_2O + \text{طاقة شمسية}$$

$$C_x(H_2O)_y + O_2$$

كربوهيدرات

وتبدأ العملية بامتصاص ضوء الشمس في المنطقة المرئية بواسطة الصبغة الخضراء (الكلوروفـيل) في النبـاتات، حـيث تتـوفر للنبات طاقة كيميائية تستعمل لاختزال ثاني أوكـسـيـد الكاربون إلى كـاربوهيـدرات واكـسـدة الماء إلى أوكـسـجين، وخزن الطاقة الشـمسية في الكاربوهيدرات، والتي تطلق مرة أخرى عندما تتعرض الكاربوهيدرات في أجـســام الحيوانات والنباتات إلى العمليات الكيميائية الحياتية التي تحرر ثاني أوكسيد الكاربون والماء.

$$C_x(H_2O)_y + nO_2 \longrightarrow X CO_2 + yH_2O + \text{طاقة}$$

5 - 1 - 2 التعريف الكيميائي والمدخل إلى الكاربوهيدرات:

يعتبر كل من الكربون والهيدروجين والأوكسجين من العناصر الرئيسية في المركبات الكاربوهيدراتية، وأن الأوكسجين والهيدروجين يوجدان كما هما في الماء: 1) (2 حيث تعني أن الكاربوهيدرات تنتج من اتحاد الكاربون مع الماء وأعطيت لكثير من هذه المركبات الصيغة الجزيئية $C_x(H_2O)_y$ وتتراوح قيمة X من ثلاثة إلى عدة آلاف وسميت وفقا لذلك بهيدرات الكاربون $C_x(H_2O)_y$ وهناك مركبات عضوية غير كاربوهيدراتية تملك صفة جزيئية تشابه المركبات الكاربوهيدراتية مثل حامض الخليك ($CH_3COOH, C_2H_4O_2$)، وحامض اللاكتيك ($CH_3—OH—COOH\ C_3H_6O_3$) وهناك بعض من المركبات الكاربوهيدراتية التي لا تحمل كل من الأوكسجين والهيدروجين بنفس نسبة وجودهما في الماء مثل سكر الرامنوز (Rhamnose)، والسكر الرايبوز اللاأوكسجيني $C_5H_{10}O_4$ كما أن بعض الكاربوهيدرات تحتوي على الكبريت والنتروجين (انظر الى الجدول 5 - 1).

الجدول 5 - 1

الصيغة الجزيئية للسكريات المختلفة

أ ـ الحالات التي تتفق مع التعريف (نسبة الأوكسجين : الهيدروجين) = 1 : 2

الاسم	الصيغة الجزيئية	$C_nH_{2n}O_n$
1 - الدايوسات	Dioses	$C_2H_4O_2$
2 - الترايوسات	Trioses	$C_3H_6O_3$
3 - التتروسات	Tetroses	$C_4H_8O_4$
4 - البنتوسات	Pentoses	$C_5H_{10}O_5$
5 - الهكسوسات	Hexoses	$C_6H_{12}O_6$
6 - الهبتوسات	Heptoses	$C_7H_{14}O_7$

ب ـ الحالات التي لا تتفق مع التعريف

1 - الديوكسي رايبوز	Deoxy Ribose	$C_5 H_{10} O_4$
2 - حامض اللاكتيك	Lactic Acid	$C_3 H_6 O_3$
3 - الكلوكوز أمين	Lucose amine	$C_6 H_{13} O_5 N$

5 - 2 تقسم الكربوهيدرات **Classificstion of Carbohydrate**

يمكن تقسيم الكربوهيدرات تبعاً لتحللها المائي إلى :

أ ـ السكريات الأحادية Monosaccharides.

ب ـ السكريات المحدودة Oligosaccharides.

ج ـ السكريات العديدة (المضاعفة) Polysaccharides.

فالسكريات الأحادية المسماة أيضا بالسكريات البسيطة تتكون من وحدة واحدة من الكحول الكيتوني أو الألدهايدي متعدد الهيدروكسيل والتي لا يمكن تحليلها إلى سكريات أبسط، والكلوكوز ذو الشكل الفضائي (D) أكثر هذه السكريات انتشارا، حيث تشتق الكثير من المركبات منه، وهناك أمثلة أخرى كثيرة منها المانوز، الفركتوز ...الخ.

أما سكريات الاليغو فتتحلل مائياً مكونة عدد من الوحدات السكرية(2 - 6) مثل :

(1) السكريات الثنائية Disaccharides : التي تنتج وحدتين من السكر الأحادي من نوع واحد أو نوعين مختلفين مثل سكر اللاكتوز Lactose المتكون من الكلوكوز Glucose والكلاكتوز، أما سكر الشعير (المالتوز Maltose) فهو يتحلل إلى وحدتين من الكلوكوز (Glucose) .

(2) سكريات ثلاثية Trisaccharides : تنتج هذه السكريات عند تحللها المائي ثلاث وحدات من سكريات أحادية مثل سكر الرافينوز والذى ينتج عند تحلله المائي كل من الفركتوز، الكلوكوز، والكالاكتوز.

5 - 2 - 1 السكريات الأحادية Monosaccharides

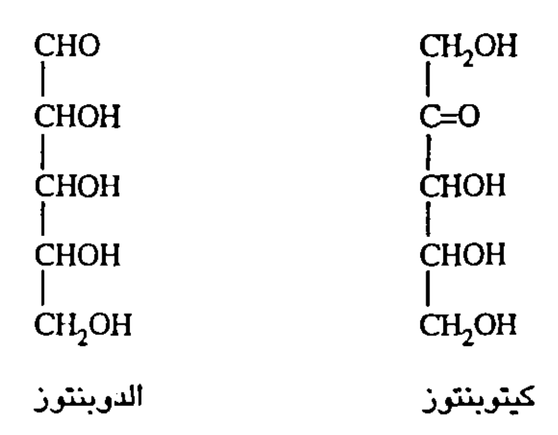
وتسمى أيضا بالسكريات البسيطة التي تتكون من وحدة كحولية كيتونية أو الدهايدية متعددة الهيدروكسيل والتي لا يمكن تحليلها إلى سكريات أبسط، فالكلوكوز ذو الشكل الفضائي (D) اكثر هذه السكريات انتشاراً حيث تشتق الكثير من المركبات منه، وهناك أمثلة كثيرة على هذه السكريات منها المانوز والفركتوز ... الخ.

لهذه السكريات صيغة تجريبية (Empirical Formula) $C_n H_{2n} O_n$ حيث n = 3 أو أكثر وإن الهيكل الكربوني للسكريات الأحادية الأكثر انتشاراً غير متشعب وكل ذرة كاربون تحتوي على مجموعة هايدروكسيل (OH)، عدا واحدة منها تحتوي على الأوكسجين الكاربونيلي (Carbonyl oxygen)، وعندما تقع في نهاية السلسلة يصبح المركب من نوع الألدهايد وعند عدمه يكون السكر كيتوني أي يحمل مجموعة الكيتون. وتسمى السكريات التي تحمل مجموعة الألدهايد بالالدوز Aldose، وتلك السكريات الأحادية التي تحمل مجموعة الكيتون بالكيتوز Ketose اي إن كلا المجموعتين تنتهي بالمقطع (OSE) .

تصنف السكريات الأحادية حسب : (1) عدد الذرات الكربونية في الجزيئة، وكذلك (2) حسب نوع المجموعة الفعالة التي تحمل في جزيئاتها (وجود محموعة الدهايدية أو مجموعة كيتونية)، ويشتق اسمها العام من اللفظ الذي يستعمل ليدل على عدد ذرات الكربون وينتهي بالمقطع (OSe). انظر إلى الجدول (5- 2) والجدول (5- 3).

إن أبسط أنواع السكريات الأحادية تلك التي فيها ثلاث ذرات كربون مثل كليسر الدهايد "Glyceraldehyde"، والداي هيدروكسي اسيتون "DioHacetone"، فمركب الكليسر الدهايد يحمل مجموعة الألدهايد (Aldo) و3 ذرات كربون (الترايوز Triose) فيسمى حينئذ بـ الالدوترايوز Aldotriose، أما الداي هيدروكسي اسيتون فهو سكر أحادي ذو ثلاث ذرات كربون مع مجموعة كيتون فيسمى كيتوترايوز (Ketotriose) أما السكر الأحادي الذي به أربع ذرات كربون ويسمى باسم تتروز (Tetrose)، والذى يحمل خمس ذرات كربون بالبنتوز (Pentose)، أما الذي يحمل ست ذرات كربون فيسمى هكسوز (Hexose)، والذي يحمل سبع ذرات كربون باسم هبتوز (Heptose)

فـالـسـكريات ذات أربع إلى سـبع ذرات يطلق عليـهـا اسم الدوز "Aldose" إن كـانت تحـتـوي على مجمـوعـة الدهايد، كما ويطلق اسم الكيـتوز على السكر الأحادي الذي يحتوي على مجموعة كيتون .



جدول (5- 2)

الصيغ التجريبية وأسماء السكريات الاحادية

عدد ذرات الكربون	الاسم العام		الصيغة التجريبية
2	الدايوز	Diose	$C_2H_4O_2$
3	الترايوز	Triose	$C_3H_6O_3$
4	التتروز	Tetrose	$C_4H_8O_4$
5	البنتوز	Pentose	$C_5H_{10}O_5$
6	الهكسوز	Hexose	$C_6H_{12}O_6$
7	الهبتوز	Heptose	$C_7H_{14}O_7$
8	الاكتوز	Octose	$C_8H_{16}O_8$

جدول (5 - 3)

الصيغ التجريبية وأسماء الالدوزات والكيتوزات

الصيغة التجريبية	الالــــــدوز		الكيتوز
$C_2H_4O_2$	الكلايكول الدهايد		Glyceraldehyde
$C_3H_{16}O_3$	كليسر الدهايد		الداي هيدروكسي اسيتون
$C_4H_8O_4$	Glyceraldehyde		Dihydsroxyacetone
	الارثروز	Erythrose	الارثيرلوز Erythrulose
	الثريوز	Threose	
$C_5H_{10}O_5$	الارابينوز	Arabinose	الزايلوكيتوز Xyloketose
	الزايلوز	Xulose	
	الرايبوز	Ribose	
	اللكسوز	Lyxose	

جدول (5 - 4)

الأسماء العامة للالدوزات Aldoses والكيتوزات Ketoses

الإسم العــام للسكريات الاحادية	الإسم العــام للالــــدوزات	الإسم العــام للكيتـوزات
الترايوز	الالدوترايوز	الكيتوترايوز
التتروز	الالدوتتروز	الكيتوتتروز
البنتوز	الالدوبنتوز	الكيتوبنتوز
الهكسوز	الالدوهكسوز	الكيتوهكسوز
الهبتوز	الالدوهبتوز	الكيتوهبتوز
الاكتوز	الالدواكتوز	الكيتواكتوز

جدول (5 -5)

الصيغ التجريبية لانواع السكريات الاحادية

الإسم العام	الصيغة التجريبية	اسم التخصص	امثلة للاسم الدقيق
الترايوسات Trioses	$C_3 H_6 O_3$	أ- الالدوترايوز Aldotriose	كليسروز Glycerose
		ب- الكيتوترايوز Ketotriose	الداي هيدروكسي‌اسيتون Dihydroxyacetone
التتروسات Tetroses	$C_4 H_8 O_4$	أ-الالدوتتروز Aldotetrose	الارثيروز Erythrise
		ب- الكيتوتتروز Ketptetrose	الارثيرويلوز Erythrulose
البنتوسيس Pentoses	$C_5 H_{10} O_5$	أ- الالدوبنتوز Aldopentose	الرايبوز Ribose
		ب- الكيتوبنتوز Ketopentose	الرايبولوز Ribulose
الهكسوزات Hexoses	$O_6 H_{12} O_6$	أ- الالدوهكسوز Aldohexose	الكلوكوز Clucose
		ب- الكيتوهكسوز Ketohexose	الفركتوز Fructose
الهبتوزات Heptose	$C_7 H_{14} O_7$	أ- الالدوهبتوز Aldoheptosr	الدوهبتون Aldoheptose
		ب- الكيتوهبتوز	السيدوهبتلوز

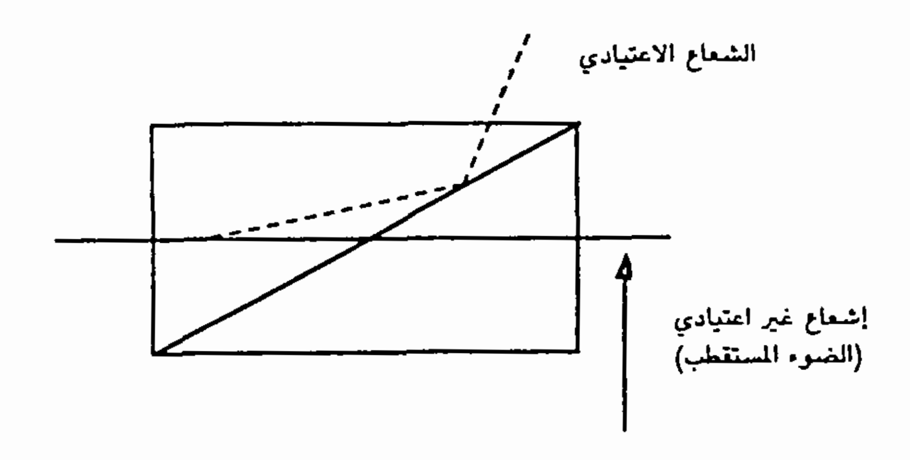
5 - 3 الضوء المستقطب والنشاط الضوئي:

Polarized Kight and Optical Activity

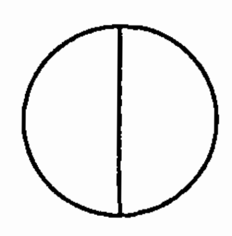
يتكون الضـوء من اضطرابات الكترومـغناطيـسـية تكبر بهيئة مجموعات، تتذبذب بصـورة معاكسة لاتجاه تكاثرها، فبالانعكاس والانكسار يمكن فصل مكونات الضوء والتي تتـذبذب في مـسـتـوى منفرد يطلق عليه الضوء المستقطب (Plane polarized light) . تتـذبذب أشـعـة الضـوء المسـتقطب في مستويات موازية لمصدر الضوء، مما يسـهل الـتـحصـول على الضـوء المسـتقطب وذلك بإمرار أشعة الضوء موحد الموجات خلال المستقطب (انظر الشكل 5 - 1).

ويوضح المنشـور نيكول آليـة رفض الشـعـاع الاعـتـيـادي والسماح للأشعة غير الإعتيادية (غير المنكسر أو المنعكس – الضوء المستقطب).

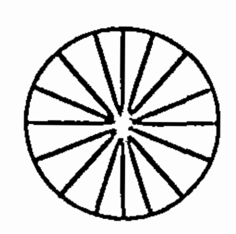
تقـوم الحـقول الكهرومغناطيسية للذرات والمجاميع في الجزيئة بالتأثير على الضـوء المسـتـقطب مسببة دوران هذا الضوء، ويعود سبب الدوران الضوئي إلى عدم التناسق الجـزيئي، وفي حـالة المركـبات الكربونية فهي تظهر بسبب وجود ذرات الكربون غير المتناسقة (تتصل الذرة الواحدة بأربع مجاميع مختلفة).



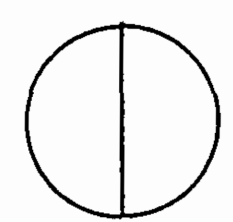
الشكل (5 - 1) الرسم التخطيطي للمنشور نيكول (Nicol Prism)



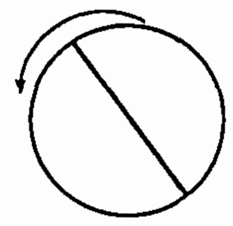
الضوء المستقطب، التذبذب
في مستوى واحد من الشعاع



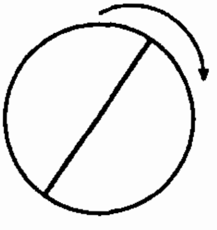
الضوء الاعتيادي والتذبذب في
جميع مستويات الشعاع



الضوء المستقطب قبل الدوران



دوران الضوء المستقطب بعكس
اتجاه عقرب الساعة أو LEVO

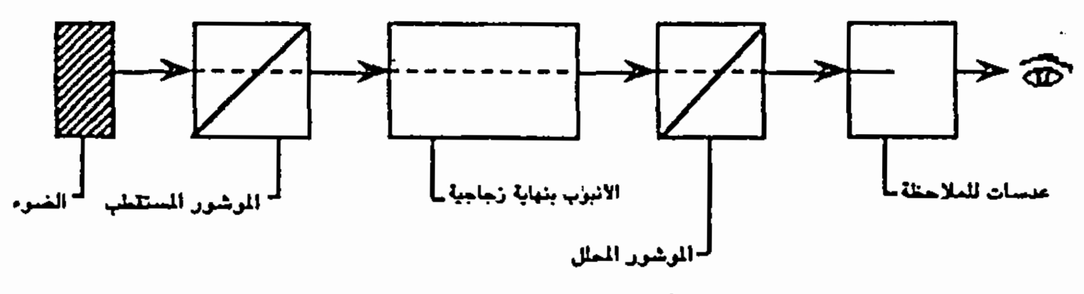


دوران الضوء المستقطب باتجاه عقرب الساعة Dextro

الشكل (5 - 2)

جهاز مقياس الاستقطاب Polarimeter

يستعمل هذا الجهاز كمقياس حقيقي للدوران الذي يحصل للضوء المستقطب أو ما يسمى بدرجة التحويل الضوئي.



الشكل (5 - 3) جهاز مقياس الاستقطاب

ويتركب هذا الجهاز من :

أ ـ الضوء ومصدره : يستعمل الصوديوم أو الزئبق للحصول على ضوء موحد الموجات Monochromatic Light.

المستقطب : يستعمل الموشور (النيكول) Nicol كمصدر للضوء المستقطب، ويتكون من منشورين بزوايا معينة. ويصنع من الصورة البلورية لكربونات الكالسيوم محدثة انكساراً مزدوجاً للضوء. ويمكن لصق هذين المنشورين بمادة بلسم كندا.

انبوب القياس : تستعمل لوضع محلول المادة المراد قياس درجة التحويل الضوئي لها.

المحلل : منشور يشبه المستقطب يتحرك داخلياً، ويثبت به قرص عليه تدريج لقياس درجات التحويل الضوئي لها.

ويتحلل الضوء موحد الموجات خلال منشور المستقطب إلى نوعين من الأشعة :

أ ـ الأشعة العادية التي تنكسر عند سطح التصاق المنشورين.

ب ـ الأشعة غير العادية (المستقطبة) وهي التي تؤثر على بعض المواد وتسبب تحولاً عن مسارها.

وتتوقف درجة التحويل الضوئي للمواد على نوع المادة، وتركيز المادة، ونوع المذيب، وطول أنبوب القياس، ومصدر الضوء، ودرجة الحرارة.

تقاس درجة التحويل الضوئي النوعي عادة نقية من دوران محلولها الضوئي حسب المعادلة التالية:

$$\text{درجة التحويل الضوئي} = (\alpha)_D^T = \frac{\text{الدوران الملاحظ } (\alpha) \times 100}{\text{طول أنبوب القياس}(L) \times C}$$

حيث :

$(\alpha)_D^T$ = درجة التحويل الضوئي النوعي في درجة الحرارة (T) بوجود ضوء الصوديوم، وعندما يستعمل ضوء الزئبق يصبح التعبير:

$(\alpha)_D^T$ (546) بطول موجي 546 نانومتر

الدوران الملاحظ (α observed) = الدوران الذى يتم ملاحظته ويقرأ بالجهاز

C = التركيز (غم/ 100سم^3) .

L = طول أنبوبة القياس .

وتتم القراءة بدرجة حرارة 20 مئوية، ويجب تحديد نوع المذيب ونوع الضوء ودرجة الحرارة ويمكن تحوير القانون أعلاه، بحيث يمكن حساب تركيز المادة وذلك من معرفة درجة التحويل النوعي :

$$C = \frac{\text{الدوران الملاحظ } (\alpha) \times 100}{\text{طول أنبوبة القياس} \times (\alpha)_D^T}$$

5 - 4 الصيغ البنائية للسكريات الأحادية

5 - 4 - 1 صيغ فشر

وضع فشرFischer طريقة لكتابة الصيغ معتمداً على الاختلافات في التوزيع الفضائي للذرات والمجموعات إلى اليمين أو إلى اليسار. وقد اعتمد العالم هذا في كتابة التركيب الفضائي على نفس الأسس التي استعملت للكلوكوز (استعمال الدكسترو Dextro، والليفو Levo للكلوكوز)، اي انه لم يكن يعرف أي من الشكلين التاليين هو ليفو Levo او دكستروDextro، وقد وضعها بصورة اعتباطية وتبين بعد ذلك أن ما إقترحه هو الصحيح.

```
   H—C=O
     |
 HO—C—H
     |
  H—C—OH
     |
 HO—C—H
     |
 HO—C—H
     |
    CH2OH
```

L evo-Glucose
L-Glucose
ليفو- كلوكوز

```
  H—C=O
    |
  H—C—OH
    |
 HO—C—H
    |
  H—C—OH
    |
  H—C—OH
    |
   CH2OH
```

Dextro-Glucose
D-Glucose
دكسترو- كلوكوز

فكل السكريات التي تشـابه فضائياً الدلسترو Dextro والليفو Levo أطلق عليها D وL على التعاقب:

$$\begin{array}{c} H-C=O \\ | \\ HO-C-H \\ | \\ CH_2OH \end{array}$$

L-Glyceric Aldehyde
كليسر الدهايد (L)

$$\begin{array}{c} H-C=O \\ | \\ HO-C-H \\ | \\ CH_2OH \end{array}$$

D-Glyceric Aldehyde
كليسر الدهايد (D)

فـالتـوزيع الفضائي على ذرة الكربون غير المتناسقـة لـ L- Glyceric Aldehyde وللـ D تمـاثـل التوزيـع على ذرات الكربـون 5 غير المتناسقـة لكل من D و الكلـوكوز L-Glucose، وتعتبر جميع السكريات ذات الالدهايد Aldo من مشتقات كليسر الدهايد L-Glyceric Aldehyde ، ونفس الشيء ينطبق على الشكل L للكليسر الدهايد.

5 - 4 - 2 الترتيب المطلق Absolute configuration

اتضح من الدراسـات الكيـمـيائية والطيفية أن الجزيئات في النموذج يميني التدوير لها جميعا الترتيب المطلق التالي:

$$\begin{array}{c} CHO \\ | \\ H-C-H \\ | \\ CH_2OH \end{array}$$

والـذي يمـثل التنظيم الحـقـيـقي في الفـراغ حـول المراكـز غير المتناظرة. أمـا تلك الجـزيئات التي تعطي شكلاً يسـاوي التـدوير فـهو يمثل صورة مرآة للترتيب يميني التدوير وموضح في الشكل التالي :

$$\begin{array}{c} CHO \\ | \\ HO-C-H \\ | \\ CH_2OH \end{array}$$

ووفق هذين الترتيبين المطلقين، استعمل الباحثون مفهوم العوائل الترتيبية، فالمركب الذى يمتلك ترتيباً مشابهاً لكليسر الدهايد (+) وينسب إليه تفاعلات معينة، يطلق عليه بأنه ينتمي إلى العائلة D وصورته في المرآة تكون من العائلة L ، أي إن الحروف D و L تمثل اسم العـائلة وليس هناك علاقة بينها وبين إشارات التدوير الحقيقية فيمثلان فقط الترتيب .

5 - 4 - 3 الأشكال D وL للسكريات الأحادية

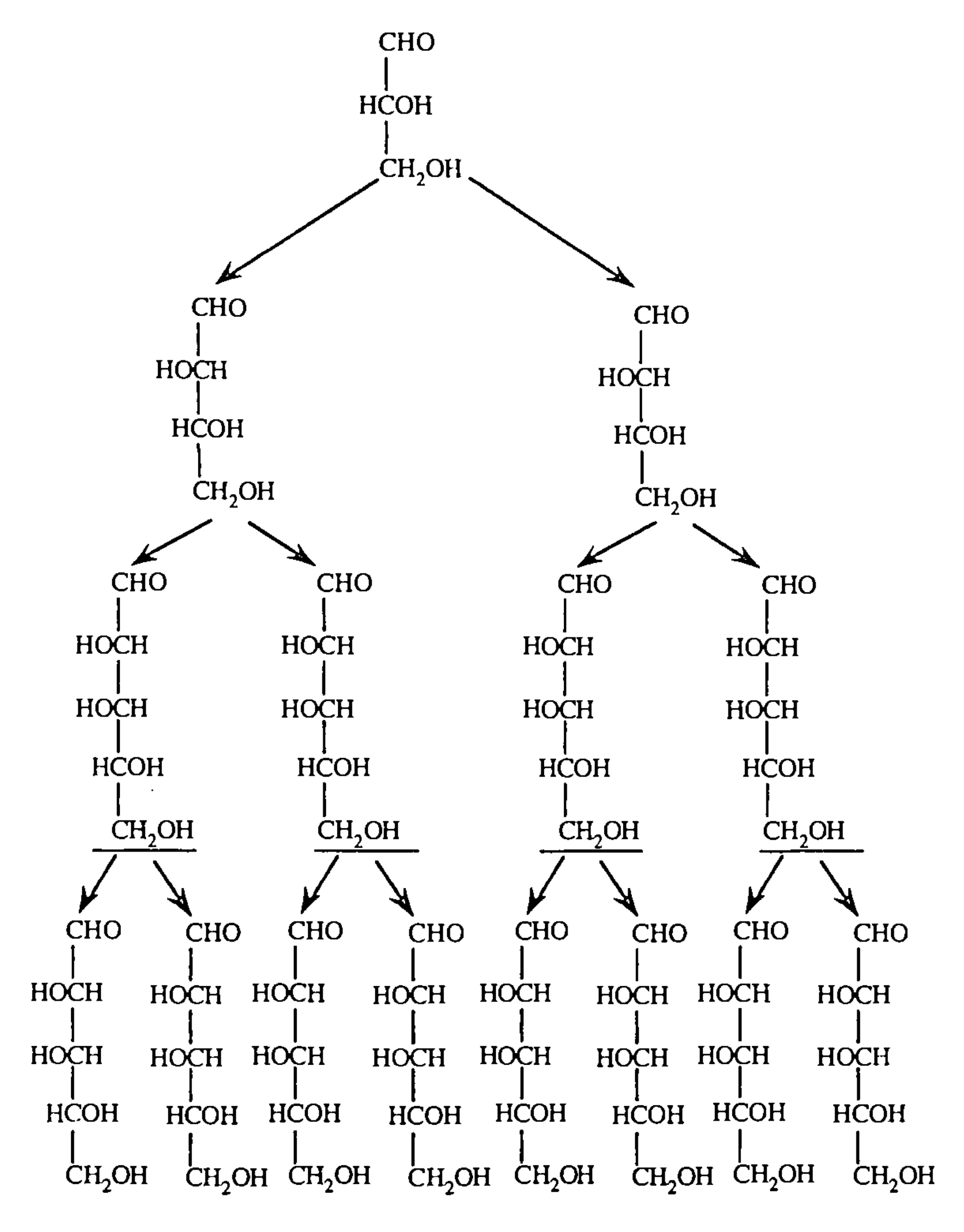
تـصـنف كل من كليسر الدهايد."Glyceraldehyde" وثنائي هيـدروكسي اسـيتون "Dio Hacetone" على أسـاس كـونها ابسط أنواع السكريات الأحـادية، حـيث للأول ندين يعود تكوينهما إلى وجود ذرة كربون غير متناسقة (كيرالية) وبشكلين D وL :

D-Glyceraldehyde	L-Glyceraldehyde
CHO	CHO
H—C—OH	HO—C—H
CH_2OH	CH_2OH
D-Glyceraldehyde	L-G lyceraldehyde
(+) كليسر الدهايد	(-) كليسر الدهايد
$13.5+ = (\alpha)^T_D$	$13.5- = (\alpha)^T_D$

فـالسكر الأحادي الذي يملك نفس ترتيب D- (+) كـليسر الدهايد على ذرة الكربون ذات الرقم الأعلى فـيتبع تصنيف D، أمـا إذا كـان له نفس الترتيب الموجود في L- (-) كـلـيسر الدهايد، ولذرة الكربون ذات الرقم الأعلى (الشكل 5 - 4) الذى يمـثل صيغ مجسـمة لجميع الالدوزات حسب نظام D وL المشتقة من D-Glyceraldehyde (أبعد ذرة كاربون من مجموعة الالدهايد أو الكيتون في جزيئة السكر).

فعليه، فإن موقع الـ OH على يمين ذرة الكربون غير المتناسقة التي تأتي قبل CH_2-OH تكون تابعة لمجموعة D- وعلى يسارها تكون مصنفة بشكل L .

أما العيب الوحيد الذي يرتبط بهذا التصنيف (D وL) فهو اقتصاره على ترتيب ذرة الكربون ذات الرقم الأعلى التي تأتي قبل CH_2OH- .



الشكل (5 - 4) علاقات السكر ذي الأشكال (-D)

الشكل (5 - 5) علاقات السكريات الكيتونية

جدول (5 - 6)

ذرات الكربون غير المتناسقة في الانواع المختلفة من السكريات الاحادية

مجموعة السكريات الاحادية	الترايوسات (3 ذرات كربون) Trioses	التتروسات (4 ذرات كربون) Tehoses	البنتوسات (5 ذرات كربون) Pentoses	الهكسوسات (6 ذرات كربون) Hexoses
ذات مجموعة الالدهايد Aldoses	CHO | •CHOH | CH_2 OH	CHO | •CHOH | •CHOH | CH_2 OH	CHO | •CHOH | •CHOH | •CHOH | CH_2 OH	CHO | •CHOH | •CHOH | •CHOH | •CHOH | CH_2 OH
ذات مجموعة الكيتون Ketoses	CH_2 OH | C=O | CH_2 OH	CH_2 OH | C=O | •CHOH | CH_2 OH	CH_2 OH | C=O | •CHOH | •CHOH | CH_2 OH	CH_2 OH | C=O | •CHOH | •CHOH | •CHOH | CH_2 OH

حيث n = عدد الذرات غير المتناسقة.

والجدول (5 - 7) يوضح عدد المتشابهات الضوئية وكذلك عدد هذه المتشابهات ذات صورة مرآة للآخر.

جدول (5 - 7)

عدد المتناظرات الضوئية والذرات غير المتناسقة

السكـــــــر		عدد الذرات غير المتناسقة	عدد المتشابهات الضوئية	عدد الأزواج ذات صورة مرآة للآخر
الالدوترايوز	Alsotriose	1	2	1
الالدوتتروز	(Alsotetrose	2	4	2
كيتوبنتوز	(Ketopentose			
الالدوبنتوز	(Aldopentose	3	8	4
الكيتوهكسوز	(Ketohexose			
الالدوهكسوز	Aldohexose	4	16	8

ولو أخـذنا الارابينوز (arabinose) مـثلا لوجدناه يحتوي على 3 ذرات كـربون غير متناسقة وهي رقم 2 , 3 , 4 مكونة 8 متشابهات ضوئية $2^3 = 8$ وهي (L, D) arab-inise .وكل من هذه المتشابهات توجد بصورتين إحداهما L والأخرى D بصرف النظر عن اتجاه الضوء المستقطب، أما السكريات ذات المجاميع الكيتونية مثل الفركتوز الذي يحمل3 ذرات كـربون غير متناسقة ذات 8 متشابهات ضوئية ($2^3 = 8$) متماثلة بأربعة مـتـشـابهات التـاكاتوز Taagtose، ســوربــوز Sorbose، فــركـتـوز Fructose، الاليلوز Allulose :

CH_2OH
|
C=O
|
H—C—OH
|
HO—C—H
|
H—C—OH
|
CH_2OH

D—Sorbose

CH_2OH
|
C=O
|
HO—C—H
|
H—C—OH
|
H—C—OH
|
CH_2OH

D—Fructose

CH_2OH
|
C=O
|
H—C—OH
|
H—C—OH
|
H—C—OH
|
CH_2OH

D—Psicose

CH_2OH
|
C=O
|
HO—C—H
|
H—C—OH
|
HO—C—H
|
CH_2OH

L—Sorbose

CH_2OH
|
C=O
|
H—C—OH
|
H—C—OH
|
HO—C—H
|
CH_2OH

L—Tagatose

CH_2OH
|
C=O
|
HO—C—H
|
HO—C—H
|
H—C—OH
|
CH_2OH

D—Tagatose

CH_2OH
|
C=O
|
HO—C—H
|
HO—C—H
|
HO—C—H
|
CH_2OH

L—Psicose

CH_2OH
|
C=O
|
H—C—OH
|
HO—C—H
|
HO—C—H
|
CH_2OH

L—Fructose

5 - 5 تفاعلات السكريات الاحادية

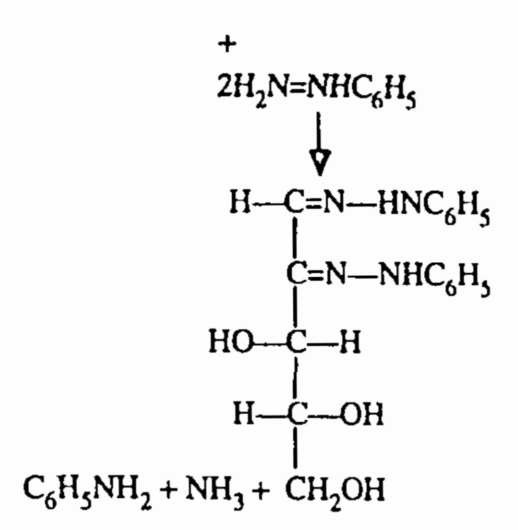
5 - 5 - 1 تفاعلات مجاميع الالدهايد والكيتون

أ ـ تفاعلات السكريات مع الفنيل الهيدرازين (Hydrazine) (الاوزازونات) : يتفاعل الفنيل هيدرازين Phenyl hydrazone (إذا كانت بكميات كافية تستهلك منه ثلاثة مولات) ومركباتها المعوضة مع السكريات الاحادية ذات مجموعة الالدهايد أو الكيتون مكونة الهايدرازون "Hydrazone" والـ أوسازون "Osazone" بثلاث خطوات. والاوسازون عبارة عن بلورات صفراء اللون غير ذائبة في الماء تختلف أشكالها باختلاف السكر الاحادي :

$$\begin{array}{l} H \\ | \\ C{=}O \\ | \\ CHOH \\ | \\ (CHOH)_n \\ | \\ CH_2OH \end{array} + 3C_6H_5NHNH_2 \quad \begin{array}{l} H \\ | \\ C{=}NNHC_6H_5 \\ | \\ C{=}NNHC_6H_5 \\ | \\ (CHOH)_n \\ | \\ CH_2OH \end{array} \begin{array}{l} + C_6H_5NH_2 \\ + NH_3 \\ + H_2O \end{array}$$

$$\begin{array}{c} H{-}C{=}O \\ | \\ H{-}C{-}OH \\ | \\ HO{-}C{-}H \\ | \\ H{-}C{-}OH \\ | \\ H{-}C{-}OH \\ | \\ CH_2OH \end{array} + H_2N{-}NHC_6H_5 \longrightarrow H_2O + \begin{array}{c} HC{=}N{-}NHC_6H_5 \\ | \\ H{-}C{-}OH \\ | \\ HO{-}C{-}H \\ | \\ H{-}C{-}OH \\ | \\ H{-}C{-}OH \\ | \\ CH_2OH \end{array}$$

D-Glucose — D-Glucose Phenylhydra Zone



ومع أن آليــة تكون الأوزازون غير معروفة على وجه اليقين، إلا أنه من المحتمل أنها ترتكز على سلسلة تفاعلات تسلك فيها مجموعة —$C{=}N$< مثل سلوك مجموعة >$C{=}O$

$$\underset{\displaystyle \overset{|}{H{-}C{-}OH}}{\overset{H^+}{CH{=}N{-}NHC_6H_5}} \rightleftharpoons \underset{\displaystyle \overset{\|}{C{-}O{-}H}}{CH{-}\overset{H}{\overset{|}{N}}{-}\overset{H}{\overset{|}{N}}C_6H_5} \longrightarrow C_6H_5NH_2$$

$$\underset{\displaystyle \overset{|}{C{=}O}}{CH{=}NH} \xrightarrow{2C_6H_5NHNH_2} \underset{\displaystyle \overset{|}{C{=}NNHC_6H_5}}{CH{=}NNHC_6H_5} + NH_3 + H_2O$$

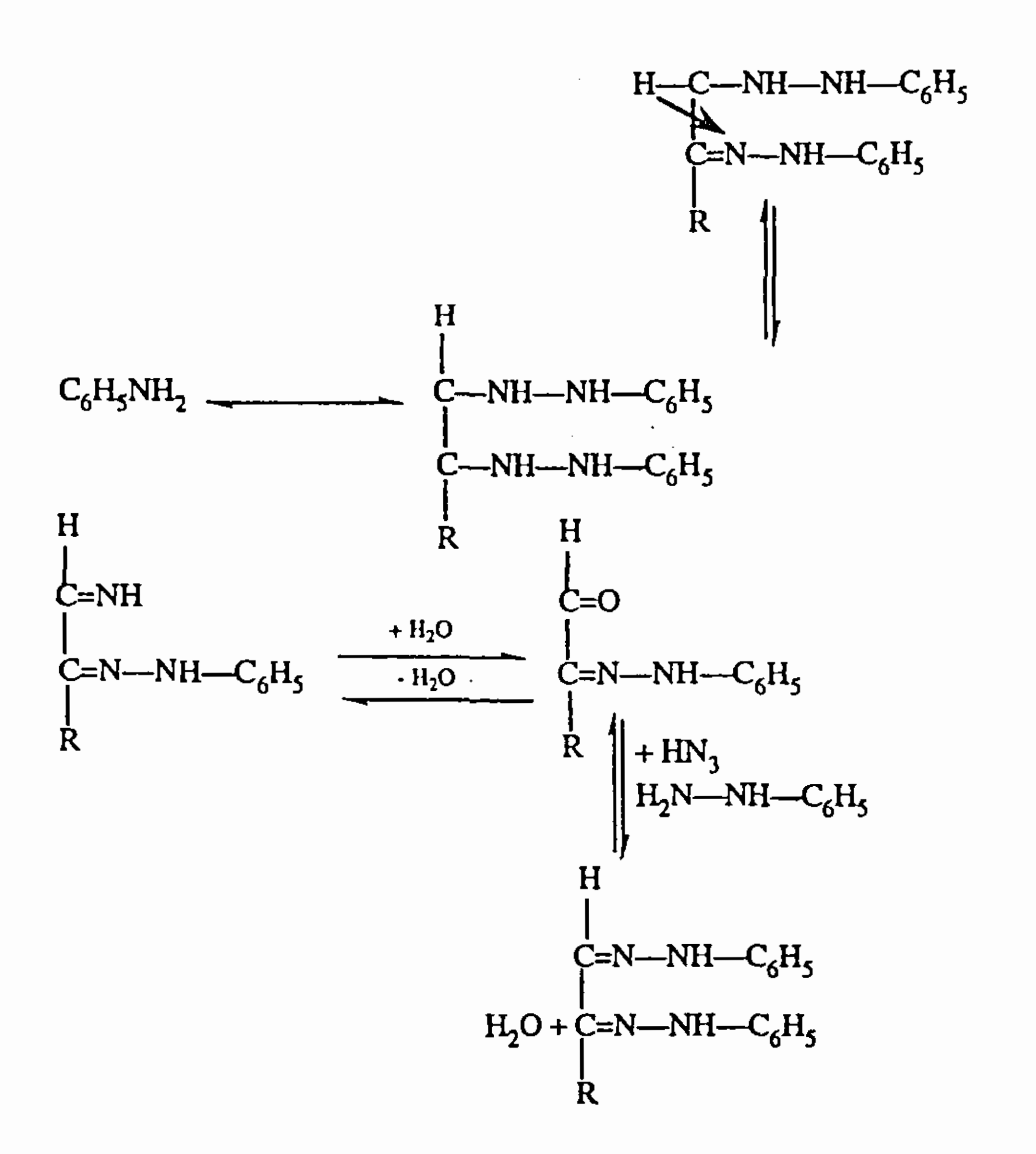
ويؤدي تكون الأوزازون إلى فـقـد الكيراليـة على C—2 لكنه لا يؤثر في كـيـتراليـة المراكـز الأخـرى، لذلك فإن D— كلوكـوز و D— مـانوز مـثلاً يعطيان نفس الفنيل الأوزازون.

ويتم التفاعل هذا بآلية Amdori :

$H-C(=N-NH-C_6H_5)-CH(OH)-R$ ⇌ (إعادة التنظيم بطريقة Amadori) $H_2C(NH-NH-C_6H_5)-C(=O)-R$

Phenyl hydrazone

$H_2N-NH-C_6H_5$



امــا الفــركــتــوز فيكون الهيدرازونات والاوزازونات Hydrozones بصــورة مماثلة للتي ذكرناها للكلوكوز.

$$
\begin{array}{c}
H-C=N-NHC_6H_5 \\
| \\
C=N-NHC_6H_5 \\
| \\
HO-C-H \\
| \\
H-C-OH \\
| \\
H-C-OH \\
| \\
CH_2OH
\end{array}
$$

D— Fructose Phenylosazones

وتتحلل الأوزازونات مائيا إلى الأوزانات osones عندما تعامل مع حامض مركز

$$
\begin{array}{l}
H-C=N-NHC_6H_5 \\
\quad | \\
\quad C=N-NHC_6H_5 \\
\quad | \\
\quad R
\end{array}
+ 2H_2O \xrightarrow{HCL}
\begin{array}{c}
H-C=O \\
| \\
C=O \\
| \\
R
\end{array}
+ 2C_6H_5NH-NH_2
$$

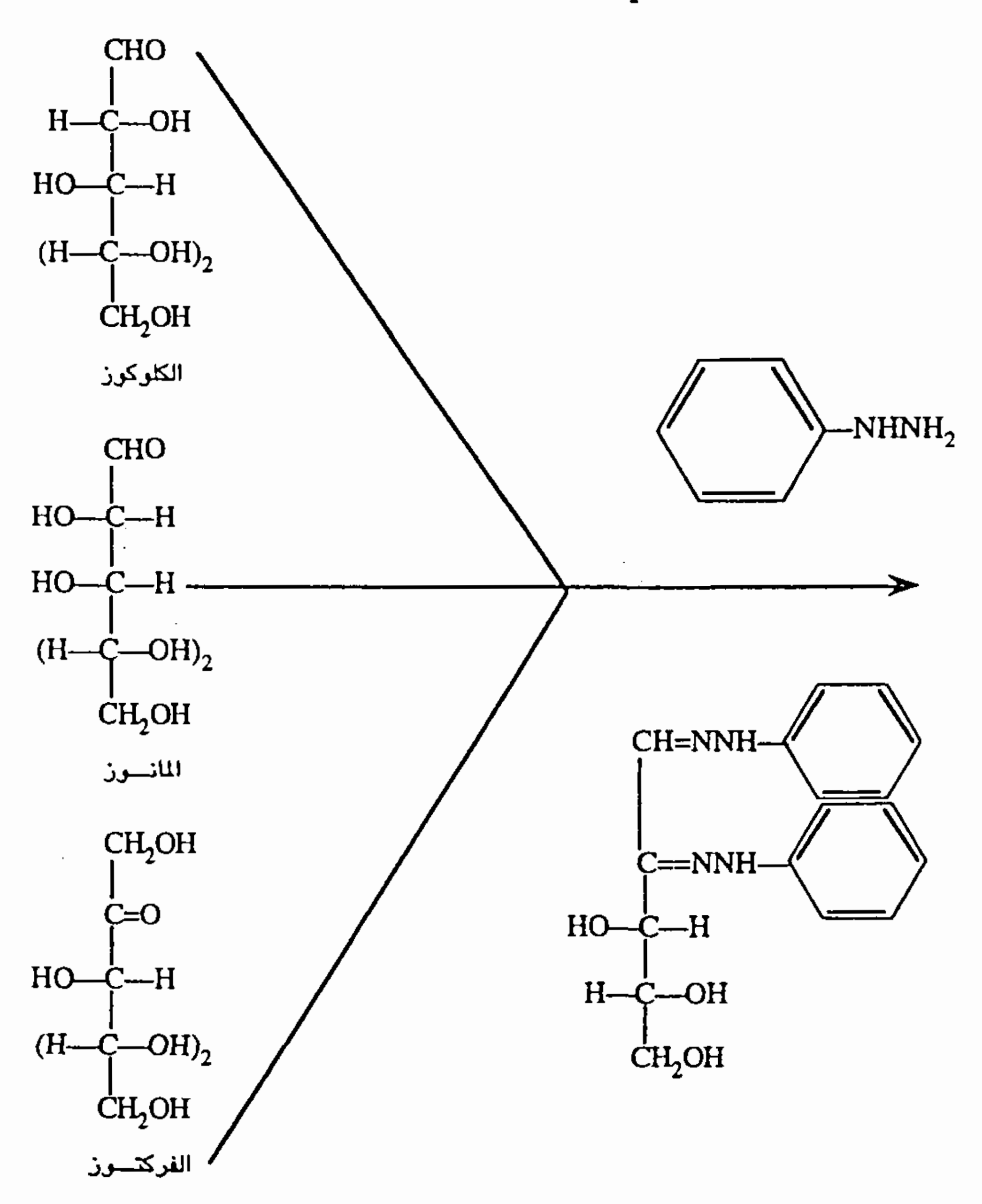
Osazone

Osone

3 - ويســتــفاد من تفاعل الأوزازون Osazone لمعــرفة ترتيب مجموعة الهيدروكسيل للسكريات الاحــادية، فــمــثــلا يعطي كل من الكلوكــوز والفــركتوز والمانوز نفس الأوزازون Osazone الناتج من خــلال تفــاعله مع الفنيل هيــدرازين، وبالتــحديد تشترك ذرتا الكربون 1 و2 بالتفاعل.

يؤدي تكون الأوزازون إلى فــقد الكيرالية على C—2 لكنه لا يؤثر في كيراليــة المراكز الاخرى، لذلك فإن D— كلوكوز وD—مانوز مثلا يعطيان نفس المثيل اوزازون.

وهذه التجربة التي أجراها لأول مرة أميل فشر اثبت ان D— كلوكوز وD—مانوز لهما نفس الترتيب C—3 ، C4 و C—5 وقد اصطلح اسم ابيمرات "Mers" على الالدوزات الدياسيريوميرية التي ينحصر اختلافها في :



(2) الإختزال وتكوين السكريات الكحولية:

يختـزل كل من الالدوسـات Aldoses والكيـتوسات Ketoses إلى الكحـول المتعدد لمجاميع الهيـدروكسـيل، وتتـحـول المجموعة الالدهايدية إلى كحول أولي، وتتحول المجموعة الكيتونية إلى كحول ثانوي. ويتكون من كل سكر تابع للألدوز Aldose نوع واحـد من السكر الكحـولي ومن السكريات الكيـتـونية نوعان من الكحولات السكرية فـينتج من اخـتزال الكلوكلوز D- Glucose السكر الكحـولي السـوربيتول Sorbitol، ويتكون من اختزال الكالكتوز D- Galactose السكر الكحولي دالسيتول Dulcitol، ومن سكر المانوز D- Mannose يتكون المانيتول Mannitol، أمـا اختزال الـ D- Fructose فينتج عنه خليط من السوربيتول Sorbitol والمانيتول D- Mannitol .

يـشـتق اسم السكريات الكحـوليـة من الاسم العـام لمجـمـوعـة السكريات، وذلك باستبدال الـ (ose-) المقطع (itol)، بعدها نحصل على الاسم العام للسكريات الكحولية ذات الكربون السداسي Hexitol، أما التي تحتوي على خمس ذرات كربون فيطلق عليها بنتيتول .

تتم عـملية الاختزال باستعمال ملغم الصوديوم sodium Amalgam أو بالهدرجة تحت ضغط عال بوجود النيكل كعامل مساعد.

كما يتم اخـتـزال السكريات الأحـادية بواسطة بوروهيدريد الصوديوم إلى مركبات تعرف باسم الديتولات

$$\underset{\text{الدوز}}{\begin{array}{c} CHO \\ | \\ (CHOH)_n \\ | \\ CH_2OH \end{array}} \xrightarrow[\text{او } H_2/Pt]{NaBH_4} \underset{\text{الديتول}}{\begin{array}{c} CH_2OH \\ | \\ (CHOH)_n \\ | \\ CH_2OH \end{array}}$$

ونلاحظ في الرسم التالي الكحولات الناتجة انواع مختلفة من السكريات :

CH_2OH
|
CHOH
|
CH_2OH

Glycerol

كليسرول

CH_2OH
|
H—C—OH
|
H—C—OH
|
CH_2OH

Erythritol

اريثريتول

CH_2OH
|
H—C—OH
|
H—C—OH
|
H—C—OH
|
CH_2OH

Ribitol

رايبيتول

CH_2OH
|
H—C—OH
|
HO—C—H
|
HO—C—H
|
H—C—OH
|
CH_2OH

Dulcitol

دلسيتول

يتكون الكليسرول من اختزال الكليسر الدهايد Glyceraldehyde، والـ أريثريتول Erythritol من اختزال الأريثروز Erythrose، كما أن الرايبيتول يتكون من اختزال الرايبوز والدالسيتول Dulcitol من اختزال الكالكتوز.

كما تتاكسد بعض السكريات الكحولية بواسطة البكتريا المناسبة وبوجود الأوكسجين إلى الكيتونات المقابلة .

```
  CH2OH                    CH2OH                      CH2OH
    |                        |                          |
 H—C—OH                   H—C—OH                      C=O
    |                        |                          |
HO—C—H       +0         HO—C—H    او عند الدوران   HO—C—H
    |      ——————>           |      ——————>            |
 H—C—OH                   H—C—OH     180 درجة        H—C—OH
    |                        |                          |
 H—C—OH                     C = O                    HO—C—H
    |                        |                          |
  CH2OH                    CH2OH                      CH2OH

D—Sorbitol               L—Sorbose                  L—Sorbose
```

3 - تاثير القلويات على السكريات الأحادية

تتصرف السكريات كاحماض ضـعـيفة جداً وتكون أملاحاً في درجة قاعدية عالية. ويوضح الجدول التالي قيم الـ pKa لبعض منها :

جدول (5 - 8)

السكــــــــر	PK_2	PK_1
الكلوكوز	12.09	13.85
الفركتوز	11.68	13.24
السكروز	12.60	13.52
اللاكتوز	11.92	13.44

وتحـصل للسكريات الأحـادية، بنوعيها الالدوز Aldose، والكيتوزKetose والتي تحـتوي على مجموعة سكرية حرة عملية تغيير داخلي نتيجة لانتقال ذرة من موضعها (التنمرة) Tatomerization مكونة الملح الأيوني.

تتحسس السكريات الأحادية بالقلويات وتتأثر في القاعدة المعتدلة وفي درجة حرارة الغـرفـة، وتحـدث لها تغيرات داخليـة مختلفة في التركيب البنائي للسكر نتيجة انتقال بعض الذرات من مـوضـعـها إلى موضع آخر في الجزيء، فتتحول السكريات بصورة

سريعة إلى خليط (وتسمى تغيرات Lobry Debruyn- Alberda Van Ekenstein) والتي تحدث في السكريات التي تختلف في تركيب ذرتي الكربون الأولى والثانية والتي تماثل في تركيب باقي الجزيئة مثل الكلوكوز والمانوز والفركتوز نتيجة حدوث التغير الأيوني في هذا الوسط العادي فالكلوكوز يعطي خليطاً من المانوز D- Mannose والفركتوزD-Fructose وذلك بانتقال ذرة الهيدوجين في ذرة الكلوكوز الثانية مكونة المركبات ثنائية الاينديول (1,2 Enediol) ذات الرابطة الزوجية بين ذرتي الكربون الأولى والثانية، والمركب هذا غير ثابت حيث يتحول إلى المانوز Mannose أو الفركتوز Fructose.

عند معاملة الكلوكوز بـ 0.04 من هيدروكسيد الصوديوم ينتج عنه الفركتوز D-Fructose وفي بعض الظروف يتكون 3.2 انديولات :

```
   CHO                 CHO                   CHO
    |                   ||                    |
 H—C—OH    ⇌           C—OH      ⇌       HO—C—H
    |                   |                     |
HO—C—H              HO—C—H               HO—C—H
    |                                         |
D—glucose          1,2-enediol           D—mannose
                        ⇅
        CH2OH          CH2OH             CH2OH
         |              |                 |
         C—O     ⇌      C—OH      ⇌       C—O
         |              ||                |
     HO—C—H         HO—C              H—C—OH

     D—fructose     2,3-enediol        D—allulose
```

وعندما يتم التفاعل في محيط ذي تركيز قوي من القلوي (0.5 عياري) أو أكثر، يحدث نوع من التغيرات الداخلية نتيجة لانتقال بعض الذرات من موقعها مسببة تكون 1 - 2 و 2 - 3 و 3 - 4 انيدول.

D-glucose ⇌ 1 - 2 enediol ⇌ D-glucose ⇌ 2 - 3 enediol

⇌ 3 - ketose, glutose ⇌ 3 - 4 enediol

4 - مع سيانيد الهيدروجين (NCN)

Killani - Frecher synthesis

يتفاعل السيانيد الهيدروجيني NCN مع مجموعة الالدهايد مكوناً ذرة جديدة كربونية غير متناسقة (Asymmetuic)، وينتج عن هذا التفاعل نوعان من الساينوهيدرين Cyanohydrin :

H—C=O + HCN ⟶ H—C(C≡H)—OH
            | |
            R   R

و

HO—C(C≡N)—H
       |
       R

تحلل مائي
بالحامض

COOH
H—C—OH
R

COOH
HO—C—H
R

اختزال

HC=O
HO—C—H
R

و

HC=O
HO—C—H
R

ويتم ذلك وفق الخطوات التالية :

يتحول اكسيم الكلوكوز D- Glucose Oxime بتعامله مع الالهيدريدات الخلوية "Acetic anhydrides" إلى السيانوهيدرن Cyanohydrin أو النتريل Nitrile، وذلك بإزاحة جزيئة ماء منه، وكذلك تتاستل Acetylates مجاميع الهيدروكسيل .

يتعامل السيانوهيدرن مع محلول نترات الفضة الأمونياكي Ammoniacal Silver nitrate ويزال منه سيانيد الهيدروجين HCN ليكون السكر الاستيلي، بذرة كربون أقل من السكر الأولي والذي يتحول إلى السكر.

$$
\begin{array}{ccccc}
\text{H—C=OH} & & \text{H—C=N—OH} & & \text{C}\equiv\text{N} \\
\text{H—C—OH} & & \text{H—C—OH} & & \text{H—C—OH} \\
\text{HO—C—H} & \longrightarrow & \text{HO—C—H} & \longrightarrow & \text{HO—C—H} \\
\text{H—C—OH} & & \text{H—C—OH} & & \text{H—C—OH} \\
\text{H—C—OH} & & \text{H—C—OH} & & \text{H—C—OH} \\
CH_2OH & & CH_2OH & & CH_2OH
\end{array}
$$

D-glucose D-glucose oxime D-glucose snitrite

$$
\downarrow
$$

$$
\begin{array}{c}
\text{H—C=O} \\
\text{HO—C—H} \\
\text{H—C—OH} \\
\text{H—C—OH} \\
CH_2OH
\end{array}
$$

D-arabinose

5 – تاثير محاليل اليود القاعدية

تتاكسد الالدوزات Aleoses بصــورة سريعة وتتحول إلى حامض الدونك Aldonic في المحيط القاعدي لليود حسب التفاعلات التالية:

$$I_2 + 2NaOH \rightleftharpoons NaOI + NaI + H_2O$$

$$R\text{—}HO + NaOI + NaOH \longrightarrow R\ COONa + NaI + H_2O$$

وعند تسخين حامض الدونك (كلوكونك Glucenic Aldonic) يتحرر الماء ويتكون خليط من كَاما (γ) ودلتا (δ) لاكتون :

$$\gamma\text{-lactone (}\alpha\text{ H–C–OH, }\beta\text{ HO–C–H, }\gamma\text{ H–C–O, }\delta\text{ H–C–CH, }CH_2OH\text{)} + H_2O \rightleftharpoons \text{COOH–(H–C–OH)–(HO–C–H)–(H–C–OH)–(H–C–CH)–}CH_2OH \rightleftharpoons H_2O + \delta\text{-lactone}$$

حامض الكلوكونك

يحصل التوازن في المحاليل المائية بين حامض الكلوكونك والاكتون بنوعيه الكاما والدلتا، أما الاحماض السكرية الاخرى التي تملك خمس ذرات كربون أو أكثر فلها نوعان من اللاكتون، والتي فيها 4 ذرات كربون فتكون لاكتوناً واحداً، ويمكن أن تختزل هذه اللاكتونات إلى السكريات المناسبة وذلك بمعاملتها بالصوديوم الاملغام بوجود حامض الكبريتيك المخفف.

6 – الاكسدة بحامض النتريك

تتاكسد المحاليل المخففة لحامض النتريك الالدوز إلى أحماض الدونية، وعند زيادة تركيز حامض النتريك (50%) تتاكسد المجموعة الالدهايدية ومجموعة الكحول الأولي لتكوين أحماض الالدارك (Aldaric) والسكاريك (Saccharic) :

$$\text{HC=O–}(CHOH)_4\text{–}CH_2OH \xrightarrow[\text{حامض النتريك المركز}]{HNO_3} \text{HO–C=O–}(CHOH)_4\text{–HO–C=O}$$

الالدوز Aldose — حامض الالداريك Aldaric acid

```
        COOH                    COOH
         |                       |
      H—C—OH                 HO—C—H
         |                       |
     HO—C—H                  HO—C—H
         |                       |
      H—C—OH                  H—C—OH
         |                       |
      H—C—OH                  H—C—OH
         |                       |
        COOH                    COOH
```

D- glucaric كلوكارك   D- mannaric منارك

D- glucosaccharic كلوكوسكارك   D- mannosaccharic مانوسكاريك

```
        COOH
         |
      H—C—OH
         |
     HO—C—H
         |
     HO—C—H
         |
      H—C—OH
         |
        COOH
```

D- galactosaccharic   كالاكتوسكاريك

D- galsctaric (mucic)   كلوتارك (ميوسك)

يضاف التابع السكاريك Saccharic لاسم السكر، فالكلوكوسكارك glucoscharic يعني السكر المتكون من أكسـدة الكلوكوز في مجموعتيه الألدهايد والكحول الاولي، أو يمكن إضافة التابع aric إلى السكر الذي يتأكسد مثل الكلوكارك Glucaric والارابارك Arabaric .

الاحماض اليورونية Unonic acids

تتكون هذه الاحماض نتيجـة اكسـدة مجمـوعـة الكحـول الاوليـة إلى مجموعة

الكربوكسيل، أي أن لكل من الاحماض مجموعتين هما الالدهايد والكربوكسيل مثل حامض الكلوكيورونك Glucronic، والمانيورونك Manuronic، والكالكتويورونك Galactouronic

```
      CHO                    CHO
      |                      |
HO—C—H                 H—C—OH
      |                      |
HO—C—H                HO—C—H
      |                      |
 H—C—OH               HO—C—H
      |                      |
 H—C—OH                H—C—OH
      |                      |
     COOH                   COOH
```

مانيورونك — D- mannuronic

كالاكتيورنك — galacturonic

```
      CHO
      |
 H—C—OH
      |
HO—C—H
      |
 H—C—OH
      |
 H—C—OH
      |
     COOH
```

D- glucuronic كلوكيورنك

D- glycuronic كلايكيورنك

```
H      RO            RO      H
  \   /                \   /
   C                     C
   | \                   | \
      O                     O
```

α-O-glycoside
الفا-o- كلايكوسايد

β-O-glycoside
بيتا -o- كلايكوسايد

$$\alpha\text{—Sugar}\ \overset{H\quad OH}{C}\ (—O—) + ROH \longrightarrow \overset{H\quad OR}{C}\ (—O—) + H_2O$$

$$\beta\text{—Sugar}\ \overset{HO\quad H}{C}\ (—O—) + ROH \longrightarrow \overset{RO\quad H}{C}\ (—O—) + H_2O$$

7 - الاسترة

الاسترات Estirs

تجـري عـمليـة الاسـترة بتـفـاعل مجاميع الهيدروكسيل للسكريات ومشتقاتها مع الـكـثير من المركـبـات التي تكون الكثير من هذه الاسترات مـثل (الخـلات) Acetate. البروبيونيت Proprionate والستيريت Stearates، والبنزويت Benzoates:

أ ـ أسترات الـ Carbonates

يتفاعل الفوسفوجين OPhosphogen أو الـكاربونيل كلورايد Carbonyl Chloride في درجة حرارة الغرفة مع السكريات، فالكلوكوز يولد-D—Glucose 1.2 : 5.6— Di carbonate، وعند تحلل الاخير مائياً يتكون D- Glucese - 5. 6 - Dicarbonate:

O = C(—O—CH₂)(—O—H) ... C = O

D-glucose1.2:5.6-dicarbonate

ب ـ أسترات الخلات "Acetate"

يجري التفاعل باستعمال حامض الخليك اللامائي "الاستيك انهيدرايد Acetic Anhydride" بوجود عامل مساعد : (خلات الصوديوم، كلوريد الزنك، حامض الكبريتيك، حامض البركلورك).

ج ـ أسترات من نوع السلفونيت Sulphonates

من اكثر هذه الأسترات انتشاراً "Toluene- p- Sulphonates" و "Methane sul- phonates". والتي تسمى باسترات التوسيل Tosyl، واسترات الميسيل Mesyl. وتحصل عملية التسولة Tosylation في محلول البيديدين فعند إستعمال الكلوكوز D-Glucose يتكون 1.2-0-(1, 2, 3,4- Tetra-o-actetyl) 6-0-tosyl-D-Glucose بصورة غير مباشرة بواسطة التسولة Tosylation للمركب الايسوبروبيليدين Isopropyli- :dense

او

D-fructoturanosyl-1-6-dip
fructose dip (Harden-Young) استر

8 - الايثرة

ايثرات السكر

تتكون هذه المشتقات من ارتباط مجاميع الهيدروكسيل مع مصادر ايثرية وهي

الكحـولات وتسـمى بالايثـرات الخـارجيـة، والأخرى تسمى بالايثرات الداخلية التي تتكون من ارتباط الهيدروكسيل الموجود على نفس جزيئة السكر.

تعـتبر المثـيلات الايثرية من أكثر المشتقات انتشاراً، حيث يحضر من مشتق السكر مع أيودايد المثيل Methyl Iodide بوجود اكسيد الفضة Silver Oxide:

$$-\overset{|}{\underset{|}{C}}-OH + MeI \longrightarrow -\overset{|}{\underset{|}{C}}-OMe + HI$$

$$2HI + Ag_2O \longrightarrow 2AgI + H_2O$$

5 - 6 السكريات المشتقة

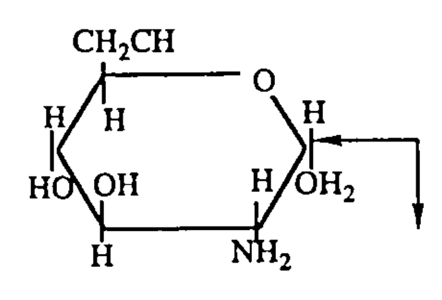
وهي السكريات التي تم اشتقاقها من السكريات الأحادية، مثل السكريات الأمينية، سكريات اللامائية Anhydride، الكلايكوسـيدات Glycosides، الـكلايكال Glycal، السكريات اللاأوكسجينية Deoxy Sugars :

1 - السكريات الأمينية Amino Sugars

لهذه السكريات أهميـة حـيـاتيـة، وتتكون نتـيـجة استبدال مجاميع الهيدروكسيل الموجـودة في جـزء السكر مع مجامـيع نتروجـيـنيـة (مجمـوعة الامين)، مثل الكلايكا أمينات Glycamines، أو تتكون نتـيـجـة تفاعل مجموعة كربونيل السكر مع مركبات نتروجينية مثل الهيدروزون Hydrazone، والاسوزون Osazone ... الخ، أو قد تتكون نتـيـجـة تكوين أستر أحماض نتروجـيـنيـة مـثل تفـاعل حامض النتريك مع مجموعة الهيـدروكـسـيل الكحـولية. وتتكون هذه المشتقات من تفاعل حامض الهيدروسيانيك والهيـدروكسيل أمين وأنواع الهيدرازين Hydrazine :

H—C = O
|
H—C—NH_2
|
HO—C—H
|
H—C—OH
|
H—C—OH
|
CH_2OH

2 - Amino -2- Deoxy - D- Glucose
Glucosamine
Chitosamine او



ومن الأمـثلة على هذه، المشـتـقـات السكرية التي تحل فـيها مجموعة أمينية محل المجـمـوعـة الهيـدروكسيلية المتصلة بإحدى ذرات الكاربون المشكلة لحلقة البيرانوز.
ومن الأمثلة على هذه السكريات :

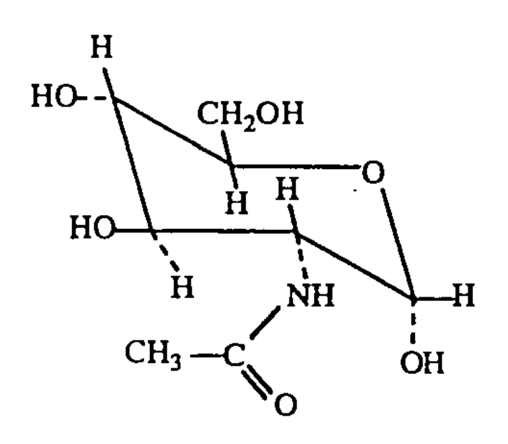
أ ـ 2 ـ أمينو ا لدوهكسوزات **2 - Amino Aldohexoses**

مثل الكلاكوز أمين D- Glucoseamine

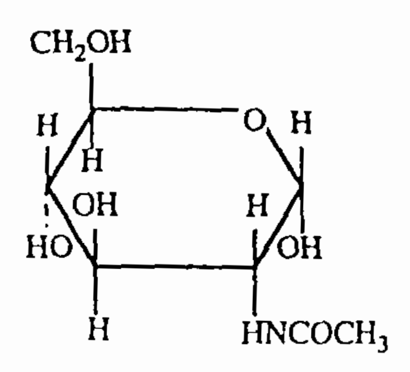
والكلاكتوز أمين D- galactosamine

ويوجدان في مشتقاتهما التي من النوع N- acetyl.

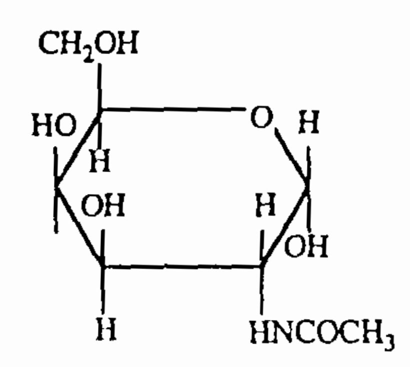
ب ـ أحماض السيالك Sialic acids



OH
H
CH_2OH
O
H
H
HO
H
NH
H
CH_3
C
H
O



N-acetyL α - D-glucoseamine
(2-acetamido-2-deoxy-α-D-glucoseamine)
(Glc NAC)



N—acetyL α - D-glucoseamine
(2-acetamido-2-deoxy α-D-glucoseamine)
(Gal NAC)

2 - الكلاكسوزامين

يوجد هذا المشتق في :

أ ـ الكايتن : المادة الاساسية في قشرة السرطان الناتج الوحيد للتحلل المائي للكايتن.

ب ـ المركب متعدد الوحدات ذو وحدة acetyl Glucoseamine في السكريات المتعددة المخاطية.

جـ ـ الهيبارن : المادة الفعالة القوية المقاومة لتخثر الدم .

د ـ بياض البيض بشكل سكريات ثلاثية.

هـ ـ ستربتوزنوسين.

CH_2OH, O, OH, OH, HO, O, NH—C—N—NO_2, CH_3

$CH=O$
H—$CHNH_2$
HO—C—H
H—C—OH
H—C—OH
CH_2OH

الشكل المفتوح

CH_2OH, O, OH, NH_2

الشكل المغلق

3 - الكالاكتوز امين

وهو أحد مكونات بعض السكريات المتعددة المخاطية الموجودة في الغضاريف، والعظام، وقرنية العين، والجلد، فالكوندريوتن هو بوليمر من أستيل كالاكتوز أمين مع حامض كلوكيورنك المادة المهمة في الغضروف والجلد والأوتار والعظم البالغ والقرنية وصمامات القلب :

$$
\begin{array}{c}
CH=O \\
| \\
H-CH-NH_2 \\
| \\
HO-C-H \\
| \\
HO-C-H \\
| \\
H-C-OH \\
| \\
CH_2OH
\end{array}
$$

الشكل المفتوح

CH_2OH ، O ، OH ، NH_2

الشكل المغلق

4 - الفورفورال

عند تفاعل السكريات الخماسية مثل الرايبوز مع 17% من حامض الهيدروكلوريك يتكون الفورفورال، حيث تنتج السكريات سداسية الكاربون مشتق الفورفورال (هيدروكسي مثيل الفورفورال) :

$$
\begin{array}{c}
H-C=O \\
| \\
H-C-OH \\
| \\
H-C-OH \\
| \\
H-C-OH \\
| \\
CH_2OH
\end{array}
\longrightarrow
\begin{array}{c}
H-C=O \\
| \\
C \\
| \\
HC \\
| \\
HC \\
| \\
HC
\end{array}
$$

Pentose سكر خماسي

Furfural

الفورفورال

إن تفاعل السكريات الاحادية مع الحوامض يعتمد كثيراً على تركيز الحامض، وإن الفورفورال ومشتقاته تتحدد مع مختلف الفينولات مكونة مركبات ملونة تعتمد عليها أغلب الكشوف اللونية للسكريات .

5 - السكريات الأحادية متشعبة السلسلة

تتميز هذه السكريات بتشعب تسلسلها، وتوجد في مصادر طبيعية مختلفة بالاعتماد على عدد ذرات الكربون وفي كيفية تشعبها.

5 - 7 التركيب الحلقي للسكريات Ring Structures

للسكريات ذات صيغة فشر (سلسلة مفتوحة) مجموعة الدهايد حرة وهو لا ينطبق مع بعض التفاعلات، ومنها :

1 - عدم إظهار الكلوكوز كشفاً لمجموعة الألدهايد (تكوين لون أحمر بنفسجي مع محلول صبغة فيوشن Fuchsine).

2 - عند إضافة حامض الكبريتيك المركز إلى جميع السكريات تنتج مشتقات الفورفورال (حلقية التركيب).

3 - تغير درجة الاستدارة النوعية بمرور الزمن، وسبب ذلك يعود إلى أن السكريات وخاصة تلك التي تذوب في الماء تكون على شكل حلقي وتتصل بالمجموعة الألدهايدية (الأوكسجين مع إحدى مجاميع HO في الذرة الكاربونية الخامسة)، وتفسير ذلك يعود إلى أن مجموعة الألدهايد تكون مجموعتين من الهايدروكسيل محل الأوكسجين، وبعد ذلك يفقد جزيئة من الماء من أحد مجاميع هذه الهيدروكسيل مع مجموعة هيدروكسيل آخر في ذرة الكربون الخامسة، ويتكون عندئذ مركبان حلقيان أوكسجينيان 1 - 5 أو 1 - 4 إما على شكل الفا α أو بيتا β يدعيان الانومرات amomers .

بالإضافة إلى ذلك فإن الكلوكوز يوجد بكميات قليلة جداً على شكل الالدهايد متوازنة مع α و β وهذه الكمية القليلة غير كافية لإعطاء نتيجة إيجابية لكشف شف.

5 - 7 - 1 اشكال فيشر الحلقية

يتكون المشـتق المثـيلي للكلوكـوز نتيجة تفاعل الكلوكوز مع الكحول المثيلي بوجود غاز الهيدروكلوريك HCL ، ولهذا المشـتق مـتـشابهان ضوئيان : الأول دوران نوعي Specific Rotation قدرة 159° + وللثاني دوران نوعي قدرة 34° — ويسميان بـ Methyl α— D—glucoside و "Methyl β—D—glucoside" على التوالي.

$$\begin{array}{c} H \quad OCH_3 \\ \diagdown \;\diagup \\ C \\ | \\ H-C-OH \\ | \\ HO-C-H \\ | \\ H-C-OH \\ | \\ H-C \\ | \\ CH_2OH \end{array} \quad (\text{ring O between C-1 and C-5})$$

METHYL α - D- GLUCOSEDE

$(\alpha) = + 159^{o}$

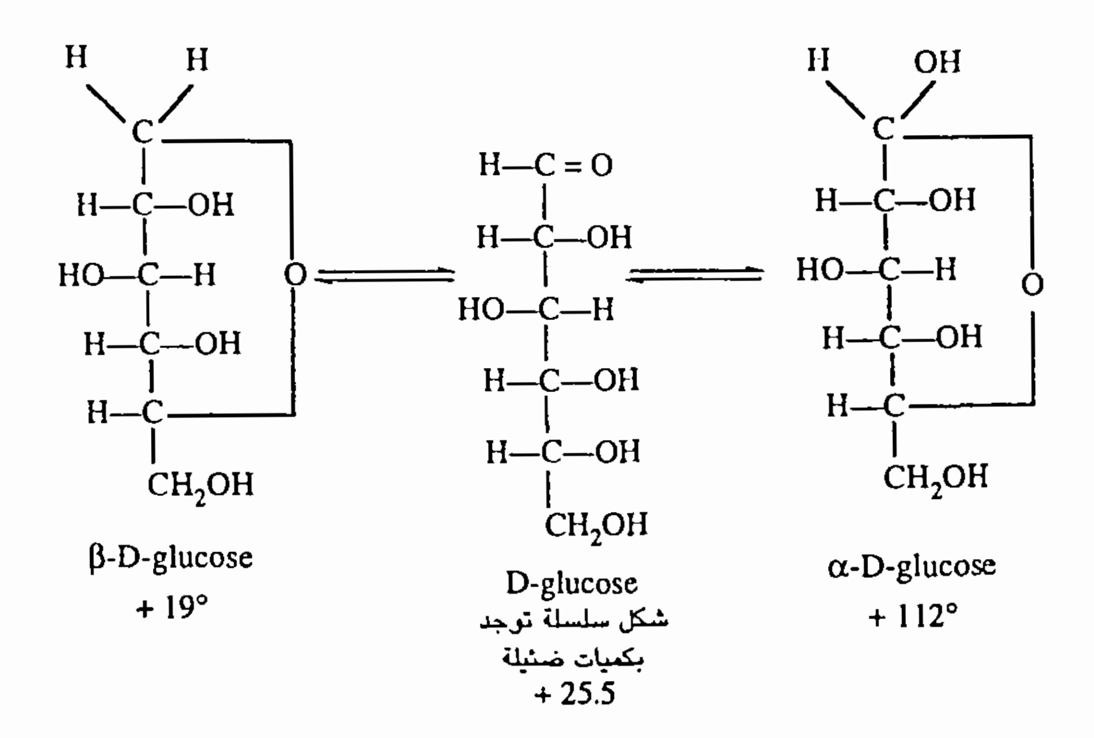
$$\begin{array}{c} CH_3O \quad H \\ \diagdown \;\diagup \\ C \\ | \\ H-C-OH \\ | \\ HO-C-H \\ | \\ H-C-OH \\ | \\ H-C \\ | \\ CH_2OH \end{array} \quad (\text{ring O between C-1 and C-5})$$

METHYL - β– D-GLUCOSIDE

$\alpha (B) = - 34^{o}$

ويعـود سـبب تكون هذين المتـشـابهين إلى الحلقة التي تربط ذرات الكربون والتي تزيد من عدد ذرات الكربون غير المتناسقة، إضافة إلى ذلك فقد لاحـظ كل من Tanret و Dubrimfamt بأن الدوران الضوئي لمحاليل السكريات يتناقص تدريجيا ويثبت بعد ذلـك، وأن التـغير في الدوران هذا هو صـفـة عـامـة للسكريات المخـتـزلة عـدا بعض الكيتوسات Ketoses وقـد تمكن Tanret من تحـضـير أشكال متشابهة للكلوكوز D-Glucose بواسطة التـبلور تحت ظروف مختلفـة، فيفضل مثلاً الشكل الذي له دوران نوعي (112° +) من الماء أو الكحـول المخـفف بدرجـة حـرارة الغـرفة، ويتناقص هذا

الدوران النوعي إلى أن يصل 52.5+ ويكون شكلاً آخر من الكلوكوز عندما يتبلور في الماء بدرجة حرارة أكثر من 98° درجة مئوية بدرجة دوران نوعي قدرها 19°+ يتغير إلى 52.5°+ بعد فترة زمنية. وسمي الشكلان بـ ألفا (D) كلوكوز، وبيتا (D) كلوكوز على التوالي وتعرف العملية بالدوران التلقائي (Mutarotation).



ويمكن ملاحظة التغير في الدوران النوعي للكيتونات السداسية مثل الفركتوز، حيث تتكون أشكال متعددة لها تابعة إلى النوع بيتا، فالأول يحمل حلقة من ست ذرات كربون ،والثاني من خمس ذرات.

5 - 7 - 2 الحجم الحلقي للسكريات الحرة

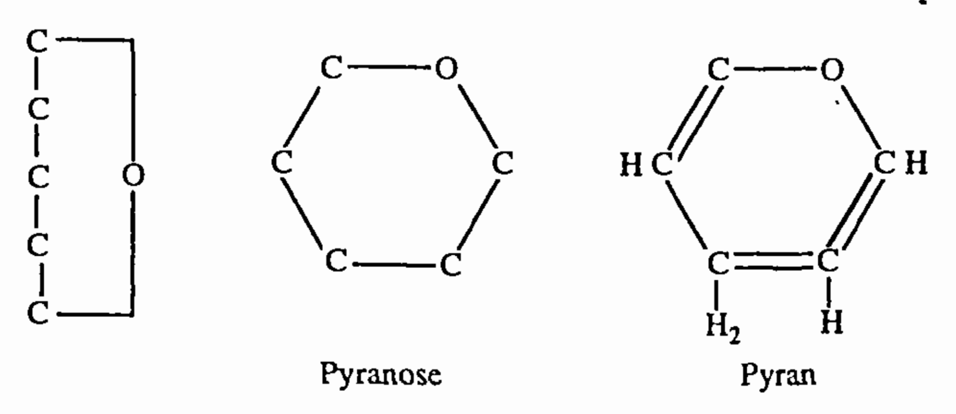
تمت معرفة الحلقة وحجمها من دراسات مختلفة، فمثلا يتأكسد كل من الشكلين ألفا أو بيتا للكلوكوز (D) باستعمال الهايبوبرومايت ويكونان D-Glucono-δ-Lactone مما يدل على أن الحلقة الاساسية لهذين الشكلين سداسية، وقد أكدت ذلك الدراسات

التي قامت على بعض السكريات الاحادية باستعمال أشعة أكس وثبت منها بأن الكلوكوز هو سداسي الشكل (Pyranoses) مثل كلوكوبايرينوز D- Glucopyranoses، وكذلك الكليكوسيدات الطبيعية مثل مثيل الفاكليكوبيرانوسايد Glycofuranosides التي تكون أيضا هذا الحجم الهيكلي. وهناك كلايكوسيدات أخرى كالكلوكوفيوراسايدات Glycofuranosides التي تكون هيكلاً كربونياً خماسياً مثل الكاما كليكوسايدات γ-Glycosides .

الخماسيات والسداسيات الحلقية :

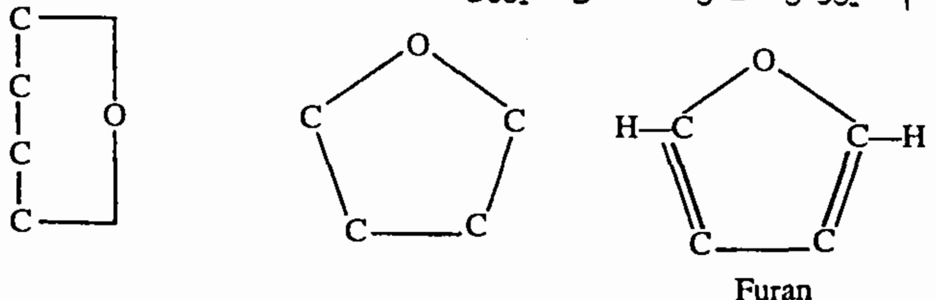
البيرانوسات والفيورانوسات Furanoses and Pyranoses

اطلق هورات Haworh اسم Pyranoses على الأشكال السداسية الحلقية للسكريات وهي مشتقة من الحلقة الكربونية الخماسية بيران Pyran مضافًا اليها ذرة أوكسجين:



Pyranose　　Pyran

وبنفس الطريقة تابع هوارث Haworth السكريات خماسية الحلقة التي أطلق عليها اسم الفيورانوسات والمشتقة من الفيوران Furan :



Furan

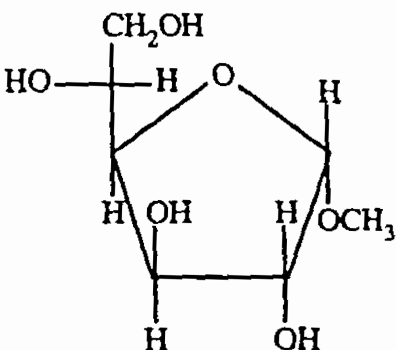
وعندما يصبح الـ H التابع لمجموعة الهيدروكسيل مضافاً إلى جهة واحدة من الآصرة المزدوجة للأوكسجين التابع لمجموعة الهيدروكسيل يتكون الالفا (D) كلوكوبرانوزa D- Glucopyranose، اما إذا اضيفت إلى الآصرة المزدوجة في الجهة المقابلة يتكون الـ بيتا ـ D ـ كلوبيرانوز D- Glucopyranose .

وتعتبر اشكال البيرانوسات Pyrnoses للسكريات هيمي اسيتالية داخلية تتكون باتحاد مجموعة الالدهايد او مجموعة الكيتون مع مجموعة الهيدروكسيل على ذرة الكربون الخامسة، اما أشكال الفيورانوزFuranose فتتكون بالاتحاد بين الألدهايد أو الكيتون مع هيدروكسيل الذرة الرابعة الكربونية.

أما أشكال البيرانوسات Pyranoses للالدوبنتوسات Aldopentoses فهي تختلف عن تلك التي للالدوهكسوات Aldohexoses في التوزيع حول ذرات C_3، C_2 فقط، اما التوزيع على C_4 فهو متماثل في جميعها.

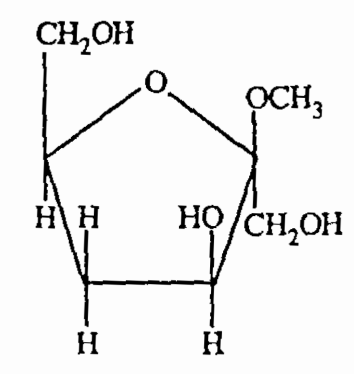
التركيب الحلقي الخماسي للألدوزات السداسية Aldohexose

يمكن رسم جميع السكريات السداسية الالدهايدية، حيث يشبه التوزيع حول ذرات C_3 - C_2 ذلك الموجود في البيرانوز Pyranose والاختلاف الوحيد هو في اتجاه مجموعة OH في ذرة C_5 ، وكذلك في جزء الجزيئة الذي يكون خارج الحلقة والذي يشمل الذرات C_6 - C_5.



Methyl α—D—glucofuranoside

إضافة إلى ذلك، يمكن رسم السكريات الكيتونية السداسية بالشكل الحلقي التالي :



Methyl β-D-fructofuranoside

او

α-D-fructofuranose

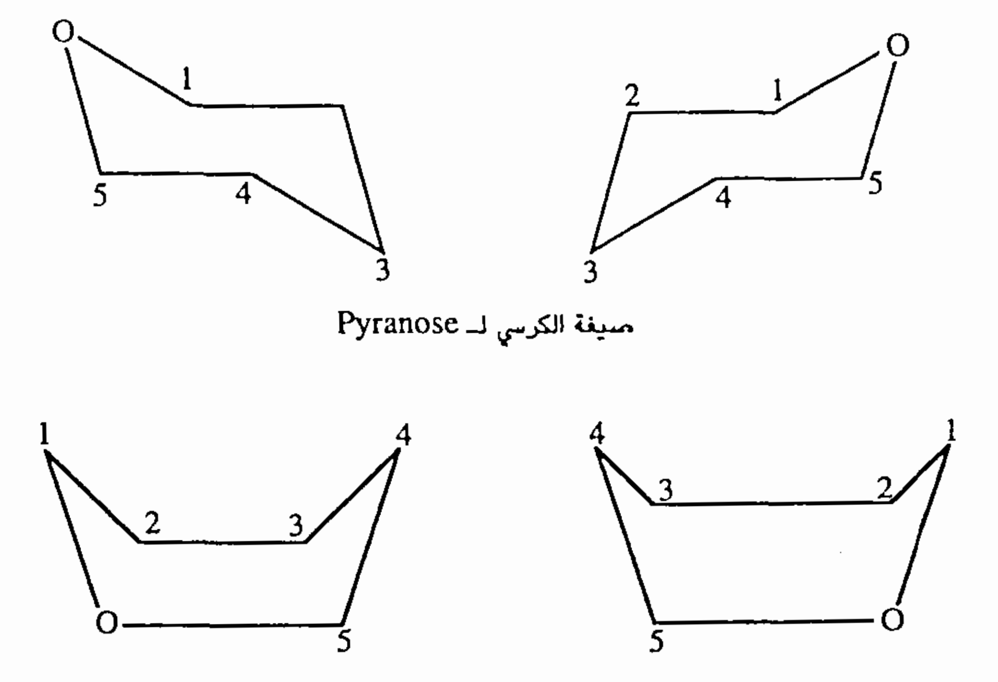
β-D-fructofuranose

ويمكن كذلك رسم هيكل الحلقة الخماسية للالدبنتوسات D- Aldopentoses وبوضع يشبه الحلقة السداسية عدا التوزيع حول C_2 ، C_3.

5 – 7 – 3 الصيغ الوضعية الاخرى Other conformational tormulas

اقترح هوارث صيغاً توضح فيها وضعية الاشكال الحلقية نتيجة الدراسات التي تمت بالاشعة السينية للصورة الحلقية للكلوكوز D- Glucose السداسية، ففي معظم السكريات توجد بشكل كرسي وبعضها بشكل زورق.

من الممكن أن تتوضح مواقع الذرات والمجاميع المختلفة المتصلة بذرات الكربون على السكريات عن طريق الدراسة التفصيلية للتركيب البنائي الحلقي، هذه المواقع إما تكون متصلة بصورة رأسية، أو مائلة كما في الأشكال التالية :



صيغة الكرسي لـ Pyranose

صيغة الزورق لـ Pyranose

إن أكثر هذه الصيغ استعمالا هي صيغة الكرسي، والمثال التالي يوضح هذه الصيغة أثناء تحويل الفا (D) والبيتا للكلوكوز ذي الحلقة السداسية.

α-D-glucopyranosc

β-D-glucopyranose

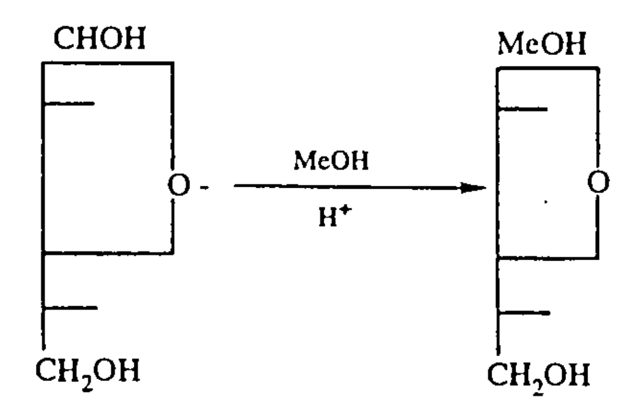
تكون أشكال الكرسي أكثر استقرارا وتعتبر الحلقات المسطحة لتراكيب هاورث أشكالاً مبسطة. ويلاحظ من الشكل أعلاه تواجد كل من ألفا وبيتا ـ كلوكوز بشكل الكرسي. وتضم أكبر عدد ممكن من المجاميع الكبيرة المعوضة التي تتجه إلى الخارج وبعيداً عن الحلقة.

5 – 7 – 4 طرق إثبات التركيب الحلقي للسكريات

(1) المثيلة **Methylation**

أ ـ عند تفاعل الكلوكوز مع الكحول المثيلي بوجود عامل مساعد (مثل غاز الهيدروكلوريك HCl) يتكون خليط من متناظرين يسميان على التوالي Methyl β– D-Glucoside و Methyl α - D-Glucoside. ويتطلب التقابل وجود ذرة

كربون رقم (1) غير متناسقة هما أسيتاليه Hemiacetal داخل الجزيئة أي بين مجموعة كربونيل الالدهايد وإحدى مجاميع الهيدروكسيل.



ب ـ لا يكون محلول الكلوكوز مركبات الشف Schiff نظرا لغياب مجموعة الألدهايد.

جـ ـ خاصية الدوران التلقائي Mutarotation : عند بلورة الكلوكوز يتكون المتناظر ألفا الذي يقدر دورانه النوعي بـ °112 + تتغير تلقائيا إلى °52 + بسبب حدوث التركيب الحلقي، أي أن تركيبات الأسيتال لا تفتح وتغلق تلقائياً مثل هيمي أسيتال، فلا تتميز الكلايكو سيدات بخاصية تغير التدوير الضوئي.

د ـ الكلايكوسيدات شانها شان الاسيتال ثابتة تجاه القواعد لكنها تتميأ بالأحماض المخففة.

هـ ـ نعطي كشفاً سالباً مع محاليل توالين وبندكيت.

(2) المثيلة بطريقة Irvine و Haworth

إستعمل هوارث "Haworth" الكبريتات ثنائية المثيل في محيط قاعدى لتحويل المجاميع الهيدروكسيلية إلى مشتقات مثيلية.

إن هذه الطريقة التي ابتدعها هوارث مكنت من معرفة أن كلايكوسيدات المثيلية لها حلقة سداسية، حيث كما ذكرنا أن رباعي المثيل للكلوكوز يكون حامض ثلاثي ميثوكسي كلوتارك وحامض ثنائي ميثوكسي سكسنيك عند استعمال السلسلة المفتوحة للكلوكوز، ويعلل تكون هذين الناتجين بسبب تكسر واحدة أو أخرى من رابطتي

كاربون - كاربون اللتين تشترك بهما الكربون والحاملة لمجموعة الهيدروكسي.

H OCH₃ → reaction scheme:

$$\text{Pentamethyl: } \xrightarrow[\text{NaOH}]{(CH_3)_2SO_4}$$

H — C(OCH$_3$) (ring C)		H — C(OCH$_3$) (ring C)
H—C—OH		H—C—OCH$_3$
HO—C—H O	$\xrightarrow[\text{NaOH}]{(CH_3)_2SO_4}$	CHO—C—H O
H—C—OH		H—C—OCH$_3$
H—C— A		H—C—
CH_2OH		CH_2OCH_3

Pentamethyl D- Glucopyranose

methyltetra-o- methyl- α– D-glucopyranoside.

CH_2—OCH_3; H; O; H; H; OCH_3; HO; CH_3O; OCH_3; H; OCH_3

$$\xrightarrow[NaOH]{(CH_3)_2SO_4}$$

$$\xrightarrow[H^{\oplus}]{H_2O}$$

$+ CH_3OH$

Tetramethl-D-Glucofuranose

HNO3

Dimethyloxy succinic ascids

(3) الاكسدة بواسطة حمض البيريودك Periodic

قام كل من جاكسون Jackson وهدسون Hudson بإثبات حجم التركيب الحلقي، وذلك من خلال أكسدة الكلايكوسيدات كما في التفاعلات التالية:

H OCH3 / C — H C OH — HO C H — H C OH — H C — CH2OH (ring O) + H_5IO_6 ⟶ H. COOH + (H OCH3 C — H—C=O — O — H—C=O — H—C)

Methyl α-D- glucopyranoside   الالدهايد الثنائي

فـالحلقـة السداسية تعطي الألدهايد الثنائي وحمض الفورميك، بينما تكون الحلقة الخماسية الألدهايد الثنائي فقط :

H OCH3 / C — HO—C—H — H—C—OH — H—C — CH2OH (ring O) + H_5IO_6 ⟶ (H OCH3 C — H—C=O — O — H—C=O — H—C — CH2OH)

Methyl α-arabinofuranoside   الالدهايد الثنائي

5 - 8 السكريات المحدودة Oligosaccharides

تنقسم السكريات المحدودة حسب عدد الوحدات المكونة لها إلى :

1 - السكريات الثنائية Disaccharides

أ ـ المالتوز (كلوكوز + كلوكوز).

ب ـ اللاكتوز (كلوكوز + كالكتوز).

ج ـ السكروز (كلوكوز + فركتوز).

د ـ سكريات أخرى (السليبايوز، الجنتيوبايوز، والملي بايوز التورانسوز).

2 - السكريات الثلاثية Trisaccharides

أ ـ الرافينوز (كلوكوز + كلوكوز + كالكتوز).

3 - السكريات الرباعية Tetrasaccharides

أ ـ ستاكيوز (كالكتوز + كالكتوز + فركتوز + كلوكسوز).

السكريات المحـدودة هي المركبات التي تتكون من 2 - 6 أو 2 - 10 وحدات سكرية مـرتبطة بأواصر كلايكوسيدية تتكون بفقد جزيئة ماء تختلف لمواقعها ووحدات بنائها (عدداً ونوعاً)، لذا فهي تختلف تبعاً للأسس التالية :

أ ـ موقع الرابطة الكلايكوسيدية.

ب ـ موقع الرابطة الكلايكوسيدية (الفا وبيتا).

ج ـ نوع وعدد السكريات الأحادية.

د ـ التركيب البنائي للسكريات الأحادية المكونة .

5 - 8 - 1 السكريات الثنائية

تتكون السكريات الثنائيـة من وحدتين من السكريات الأحادية ترتبط تساهمياً مع بعـضها البعض عن طريق الأصرة الكلايكوسيدية. يوضح الجدول (5 - 9) نوعين من السكريات الثنائية :

أ ـ السكريات الثنائية المختزلة.

ب ـ السكريات الثنائية غير المختزلة.

الجدول (5 - 9)

السكـر الثنائي $C_{12}H_{22}C_{11}$	أنواع السكريات الثنائية	مكونات السكر الثنائي
أ- السكريات المختزلة :		
1) المالتوز	Maltose	كلوكوز + كلوكوز
2) اللاكتوز	Lactose	كلوكوز + كالاكتوز
3) السليبايوز	Cellobiose	كلوكوز + كلوكوز
4) الجنتبايوز	Gentbiose	كلوكوز + كلوكوز
5) الملي بايوز	Melibiose	كلوكوز + كالاكتوز
6) التورانوز	Tura nose	كلوكوز + فركتوز
ب - السكريات غير المختزلة :		
السكروز	Sucrose	كلوكوز + فركتوز
التريهالوز	Tehalose	كلوكوز + كلوكوز

وتعتبر كل من السكريات الثنائية، واللاكتوز، والمالتوز، من أكثر السكريات أهمية، ويمكن اعتبار السكريات الثنائية من الكلايكوسيدات الطبيعية وبالأخص السكروز واللاكتوز، فالسكروز من السكريات المعروفة جيداً في النباتات (البنجر السكري، قصب السكر)، أما اللاكتوز فموجود في الحليب، والمالتوز موجود ولكن بحدود وتتكون نتيجة تحلل الغشاء المائي، أما السليبايوز Cellobiose فهو حصيلة تحلل السللوز المائي .

الآصرة الكلايكوسيدية : تتكون هذه الآصرة نتيجة ارتباط المجموعة الهيدروكسيلية للسكر الأول مع ذرة الكربون الانوميرية للسكر الثاني.

وتشمل دراسة التركيب البنائي للسكريات الثنائية ما يلي:

أ ـ قياس قابلية الاختزال للسكر الثنائي .

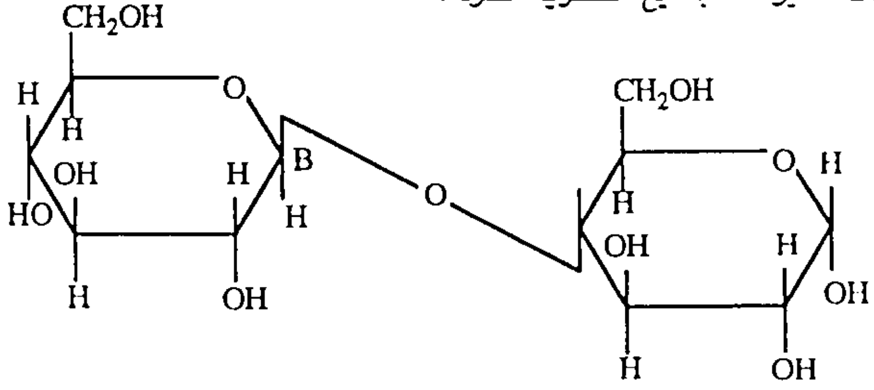
ب ـ التحلل المائي بالحامض لمعرفة مكونات السكر الثنائي .

ج ـ قياس الدوران النوعي للسكر الثنائي بالإنزيمات لمعرفة نوع الآصرة الكلايكوسيدية ألفا α أو β بيتا.

د ـ المثيلة مع التحلل المائي بالحامض للسكر الثنائي لتكوين سكريات أحادية ذات مجموعة المثيل بطريقة الكروموتوغرافيا ـ الغاز ـ السائل ويمكن الإستفادة من هذه الطريقة لمعرفة كيفية اتصال السكريات الأحادية مع بعضها.

السلوبايوز Cellobiose

ويتكون السلوبايوز من التحلل المائي غير الكامل للسللوز، ويتركب من جزيئين من الكلوكوز يمكن فصلهما بالأحماض أو الإنزيم Emulsion، وهو سكر مختزل يعطي التفاعلات المميزة للمجاميع السكرية الحرة .



4-O-3-D-Glucopyranosyl-D-Glucopyranose.

Cellobiose (الشكل الفا)

دراسة التركيب البنائي للسكر ثنائي السليبايوز Cellobiose

(Cellobiose) السليبايوز

"Octamethyl Cellobiose" أي السلوبايوز ذو ثمانية مجاميع مثيلية أو يمكن تسميته بـ Methyl hepta-O-methyl cellobioside .

وعند تحلل المركب الأخير مائياً يتولد المركب 2,3,4,6-Tetramethyl-d-glucose .

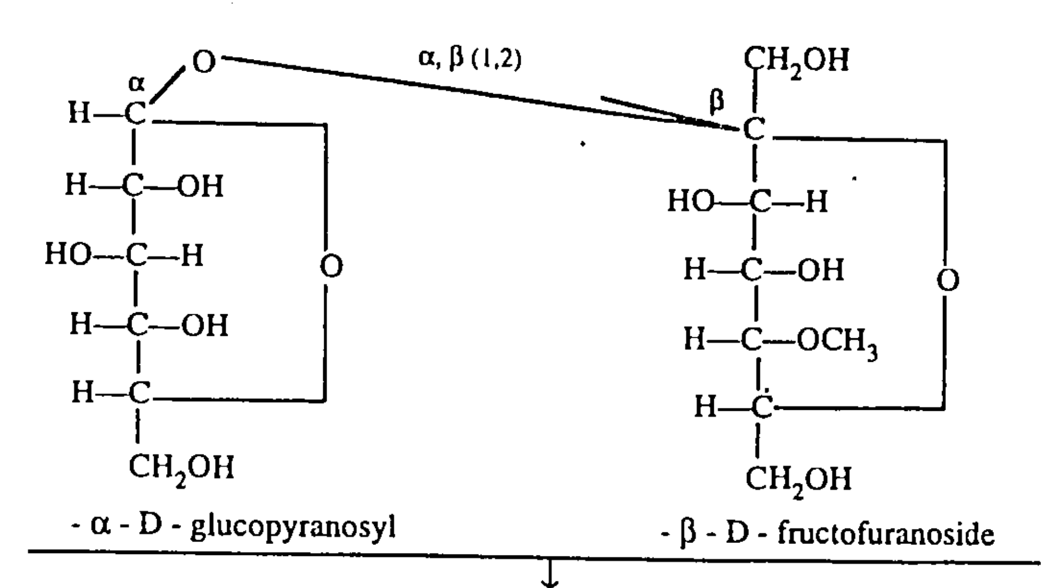
والميثانول (المركب الأول يوضح أن الكلوكوز بشكل سداسي Pyranoid) والمركب الثاني إما أن يكون بشكل سداسي Pyranoid خلال (C_4) أو خماسي Furanoid خلال (C_5) .

ينتج حامض السليبايونك "Cellobionic acid" عند أكسدة السكر بواسطة ماء البروم .

السكروز

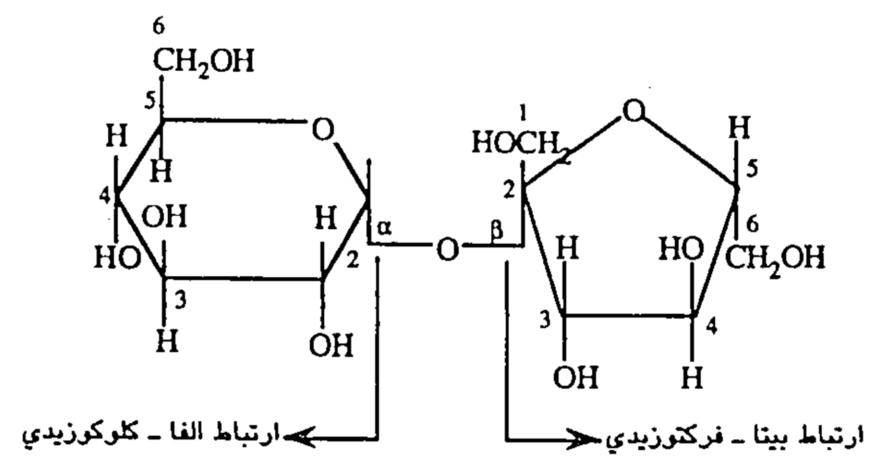
يلاحظ من التركيب الكيميائي للسكروز أنه يتكون من الكلوكوز والفركتوز متصلين بين المجاميع المختزلة الموجودة في ذرات الكاربون الأنوميرية (ذرة الكربون رقم 1 وذرة الكاربون رقم 2)، وبالتالي فيصبح السكروز غير مختزل.

يعتبر السكروز أكثر حلاوة من الكلوكوز وأقل حلاوة من الفركتوز وكذلك أكثر حلاوة من كل من المالتوز واللاكتوز.



α - D - glucopyranosyl - β - D - fructofuranoside

sucrose



α-D-glucopyranosyl β-D-Fructofuranoside

اللاكتوز Lactose

ويسمى بسكر الحليب ويولد أثناء تحلله المائي الكلوكوز والكالاكتوز، ونظراً لاحتوائه على مجموعة كاربونيلية حرة في مجموعة الكلوكوز، لذا يطلق عليه السكر الثنائي المختزل . وخلال عملية الهضم يتم تحلله بواسطة الإنزيم اللاكتيز (Lactase) الموجود في الخلايا المخاطية المعوية.

يوجـد اللاكـتـوز (سكر الحليب) في حليب اللبـائن ويشكل 5 - 8% مـن مكونات الحليب البشري، و4 - 6% من حليب البـقـر، ويمكن الحـصـول عليه في عملية تصـنيع الجبن. يتكون هذا السكر من اتحاد جزيئة α-D-Glucopyranose مع β-D- Galacto-pyranose، حـيـث تتـصـل ذرة الكربون الرابعـة من الكلوكوز برابطة كلايكوسيدية مع ذرة الكربون الأولى من الكالاكتوز وهذه الرابطة من نوع (4 ←1) β (بيتا).

وهناك نوعـان من اللاكتوز يمكن الحصـول عليهما وهما ألفا لاكتوز وبيتا لاكتوز، وهما من السكريات المخـتـزلة التي تعطي ظاهرة تغير التـحـويل الضوئي، إضافة إلى ذلك فهي تكون أوسازون "Osazone" مع الفنيل هيدرازين "Phenyl hydrazone"

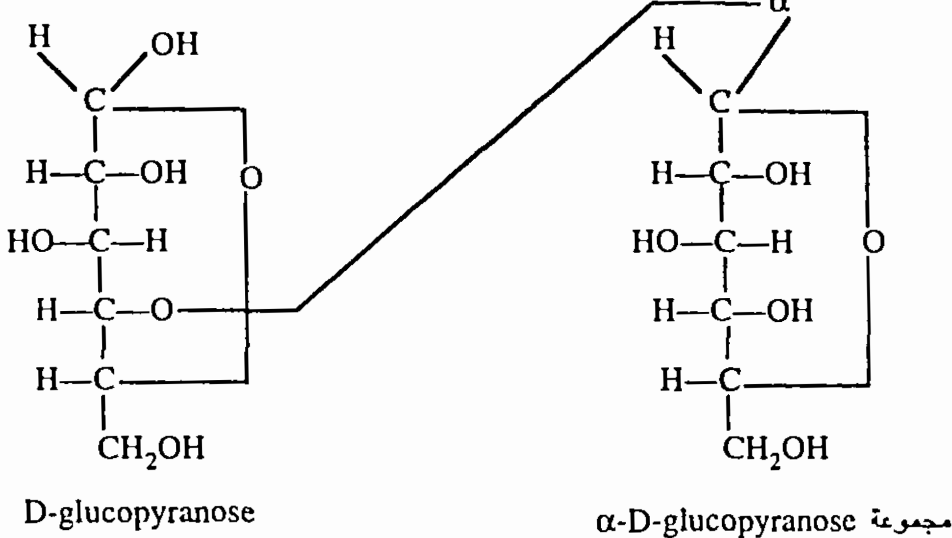
يتـحلل اللاكـتـوز مـائياً بالحامض والإنزيم Lactase إلى مـكـوناته : الكلوكـوز، والكالاكتوز، وهو سكر مختزل يكون الاوسازون (Oaszone)، والسيانوهيدرين Cya-nohydrin، واكسيم Oxime، ويتكسر بواسطة القلويات ويحتوي على مجموعة سكرية حرة في تركيبه.

وعندمـا يتأكسـد اللاكـتـوز (تتـحـول مجمـوعـة الالدهايد الحـرة إلى مجمـوعة الكاربوكسـيل يكون حـامض لاكتوبايونك Lactobnionic)، كما يقـوم الإنزيم بيـتـا كلايكوسيداز (β-Glycosidase) بتكسير الأصرة الكلايكوسـيـدية من نوع بيتا، وهذا يؤكد أن السكر هو بيـتا كلوكوز كالاكتوسليد "Glucose B— Galactoside"، وقد تم تثـبـيت التركـيب البنائي لهذا السكر من التـجـارب التي ذكـرناها وكـذلك من مـثيلة اللاكتوز.

المالتـــــوز :

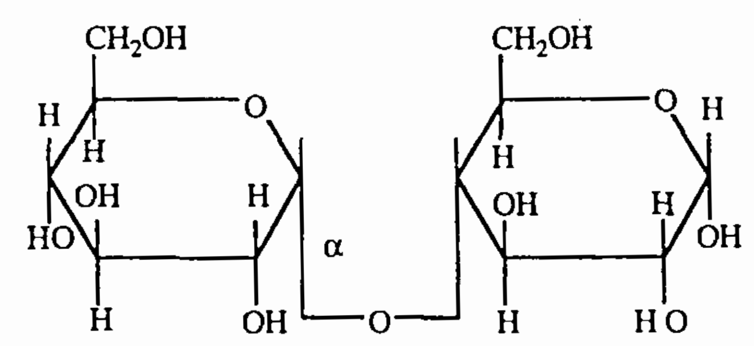
يتكون هذا السكر من اتحاد جزيئين من (D) كلوكوبيرانوز أحدهما في الوضع ألفا، وتكون الأصرة الكليكوسـيـدية نتـيـجـة اتصـال ذرة الكربون الأولى (الأنوميرية) من الوحـدة الأولى مع ذرة الكربون الرابعة من الوحدة الثانية. أي الرابطة (1 ← 4) ، حيث يكون الترتيب الفراغي لذرة الكربون الأنوميرية من النوع ألفا.

ويتكسر السكر بواسطة الإنزيم مالتيز Maltose ويحتوي على مجموعة حرة تعطي الصفات الخاصة بها، وعلى ضوء هذه المعلومات فللسكر التركيب البنائي :



4-O-α-D-glucopyrnosyl-D-glucopranose

الشكل Maltose (α)



الرابطة (الآصرة المالتوزية)

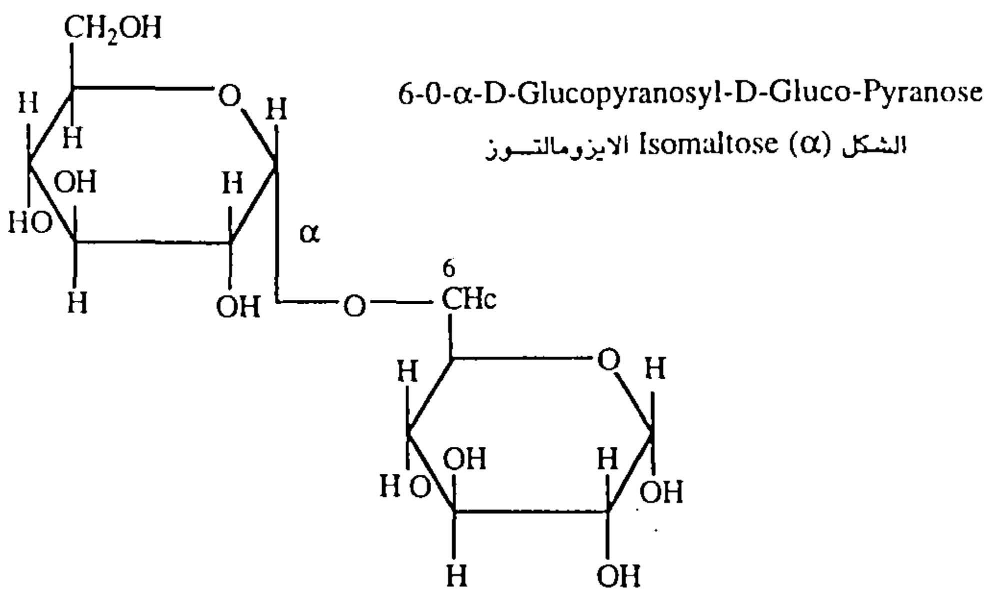
تسـمى بالرابطة الاسـتيلية أو الكلايكوسيدية، وهي الرابطة أو الجسر الاوكسجيني الذي يتـضمن وضع الحلقة الاولى في ترتيب ألفا، لذا يعتبر المالتوزر ألفا كلايكوسيدي α–glucosode

وتتـصل بهذا الجسر ذرة الكاربون رقم (1) من إحـدى جـزيئات الكلوكوز في ذرة الكاربون رقم (4) للجزيئة الاخرى (ألفا 1 ← 4).

الايزومالتوز Isamaltose

6–O–α- D-Glucopyranosyl - D-Glucopyranose

ويوجد كوحدة سكرية ثنائية في الكلايكوجين والـ أميلوبكتين"Amylopectin"، ويمكن أن يتحلل مائيا في المجرى المعدي بواسطة الإنزيم "Oligo 1, 6-Glycosidase"

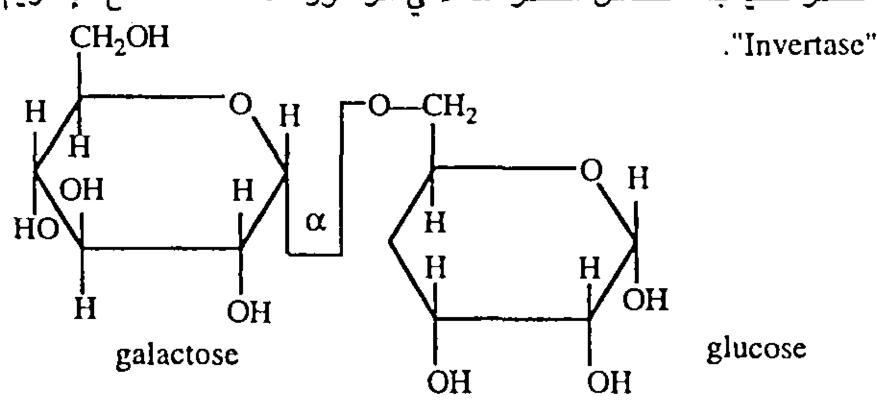


6-0-α-D-Glucopyranosyl-D-Gluco-Pyranose

الشكل (α) Isomaltose الايزومالتــوز

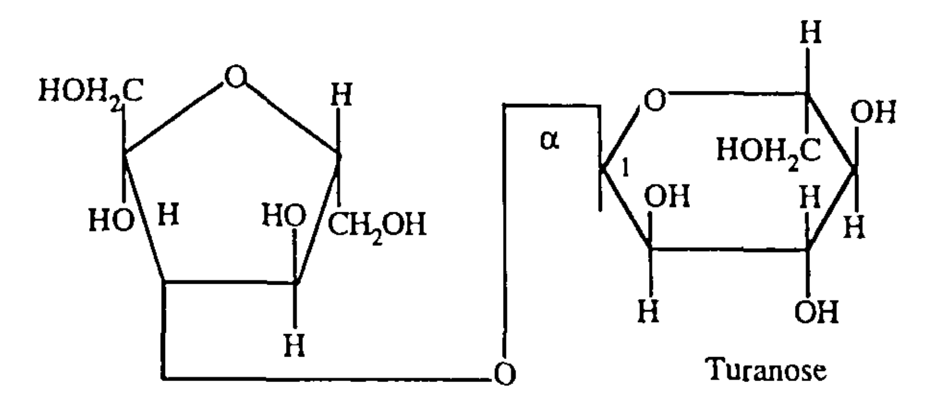
الملي بايــوز Melibiose

قام هوارث Haworth بدراسة التركيب الثنائي للسكر وسماه بـ : O-α-D galactopyranosyl (1→ 6)-O-D-glyropyranose ولهذا السكر مجمـوعة حـرة تستطيع أن تختزل وأن تقوم بالتفاعلات المميزة لمجموعة الألدهايد. ويتكون هذا السكر نتـيـجـة تفـاعل السكر الثـلاثي الرافنوز Raffinase مـع الإنـزيم الانفيرتيـز "Invertase".



التيوارنوز Turanose

ويحوي هذا السكر الثنائي على مجموعة سكر حرة ويعطي تفاعلاتها المميزة، وله التركيب 1-O-α-D-Glucopyranosyl-D-Fructofuracose. ويتكون نتيجة التحلل المائي الجزئي للسكر الثلاثي ملي زايتوز Melizitose



5- 8- 2 السكريات الثلاثية

من أكثر السكريات الثلاثية انتشاراً في الطبيعة هي المذكورة في الجدول التالي:

الجدول (5 - 11)

السكريات الثلاثية ومكوناتها

السكريات الثلاثية	المكـــونات
1- السكريات المختزلة	
المانوترايوز Mannotriose	كالاكتوز + كالاكتوز + كلوكوز
الروبينوز Robinose	كالاكتوز + رامنوز + رامنوز
الرامينوز Rhaminose	كالاكتوز + رامنوز + رامنوز
2 - السكريات غير المختزلة	
الرافينوز Reffinose	فكرتوز، كلوكوز ، كالاكتوز
الجنتيانوز Gentianose	فركتوز ، كلوكوز ، كلوكوز
المليزانوز Melezitose	كلوكوز ، فركتوز ، كلوكوز

أ ـ الرافنوز Reffinose

وهو سكر ثلاثي واسع الانتشار ويوجد بكميات قليلة في النباتات وبنسبة 0.5% في البنجر السكري وبذرة القطن.

ويتكون من وحدات كالاكتوز (D-galactose) وكلوكوز وفركتوز D-Fructose والتي تكون وحدة سكروز ووحدة مليبيوز.

وعندما يتحلل الرافنوز مائياً وبصورة كاملة يتكون من كل من الكالاكتوز والكلوكوز والفركتوز.

إن عدم إمكانية الرافنوز على إعطاء الصفات السكرية العامة يَدل على أن المجاميع الموجودة في الكلوكوز ، الكالاكتوز ، الفركتوز مشغولة بتكوين روابط كلايكوسيدية.

وقد اتضح أن الكلوكوز يرتبط مع الفركتوز بنفس الأصرة التي يرتبطان بهما عندما يكون السكروز، وأن الكلوكوز والكالاكتوز يرتبطان مثل السكر الثنائي الملي بايوز"Melibiose"، كما أن التحلل المائي المختلف يكون صورة عن التركيب البنائي له:

1 - التحلل المائي بواسطة الأحماض الضعيفة :

فركتوز ⫶ كلوكوز ـ كالاكتوز (الرافنوز) (Raffinose)

↓ HOH

فركتوز + كالاكتوز + كلوكوز (الملي بايوز) (Melibiose)

2- التحلل المائي بواسطة السكريز Sucrase:

فركتوز ⫶ كلوكوز + كالاكتوز (الرافنوز) (Raffinose)

↓ HOH

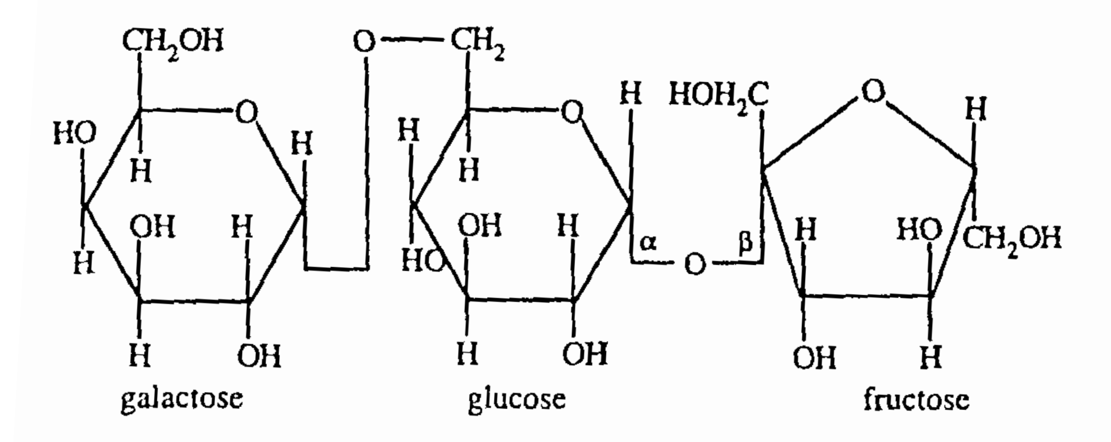
فركتوز + (كلوكوز+ كالاكتوز) الملي بايوز (Melibiose)

3- التحلل المائي المالتيز Maltase :

فركتوز ـ كلوكوز ⫶ كالاكتوز (الرافنوز) (Raffinose)

↓ HOH

كالاكتوز + (كلوكوز + فركتوز) السكروز (Sucrose)



melibiose sucrose

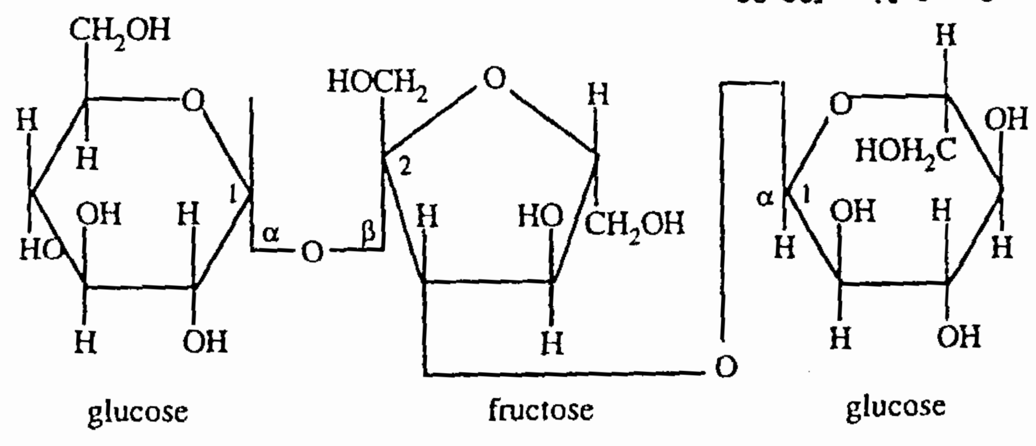
O-α-D-galactopyranosyl (1 → 6)-O-α-D-glucopyranosyl - (1 → 2) β-frucofuranoside

Raffinose الرافنـوز

ويمـكن أن يتـخـمـر هذا السكر بواسطة الخـميرة وان يتكسر بواسطة الإنزيمات الموجودة في البكتريا الموجودة في الجهاز المعدي المعوي .

ب ـ الملي زايتوزMelezitose

ويتكون هذا السكر الثلاثي من كلوكوز D- Glucose وفركتوز D- Fructose مكونة تركيب السكروز، ووحدة الكلوكوز Glucose ترتبط مع وحدة فركتوز D- Fructose مكونة تركيب التيورانوز Turanese:



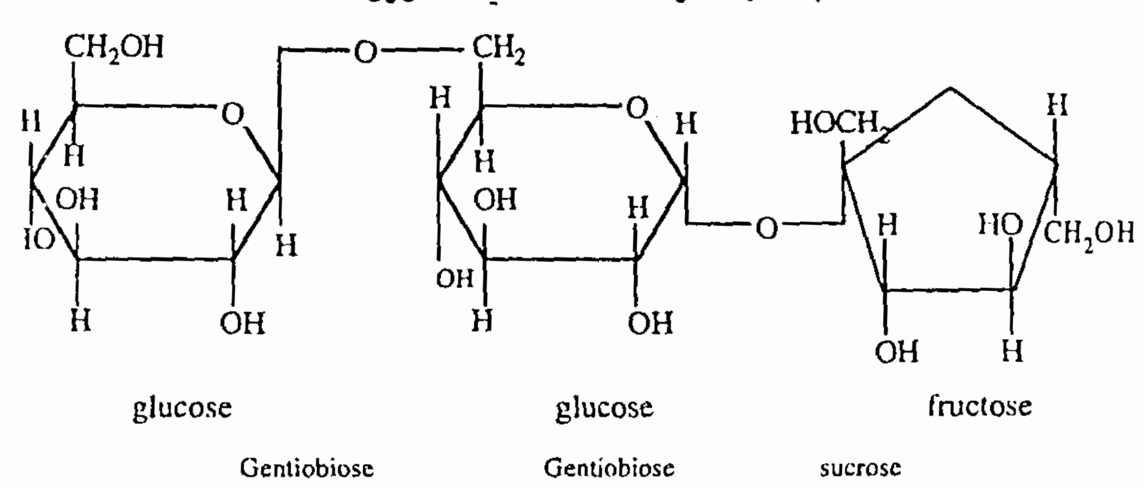
sucrose turanose

O-α-D-galactopyranosyl (1 → 2) O-β-D-fructo-furanosyl

(3 → 1) -α-D-glucopyranoside

الجنتيانوز Gentianose

ويوجد في كثير من النباتات (Gentiana) ويتكون من وحدتين من D- Glucopyranose مـرتبطة برابطة جليوكوسيدية الفا (1 → 6) معطية Gentiobiose، وهذه ترتبط بوحدة D- Fructose بالآصرة α و 1B → 2 كما في السكروز .

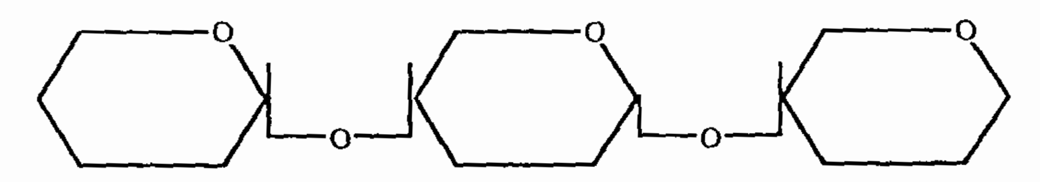


مسألـــة :

تم عـزل سكر ثلاثي من الحليب وأضـيف إليه الإنزيم بيتا ـ كالاكتوسيديز فحلله إلى الكالاكتوز والكلوكوز بنسبة 2 : 1 ، وعند اختزال السكر الثلاثي الأصلي باستعمال NaBH4 ومـثـيلة وتحليله بواسطة الحـامض وإعـادة خطوة الاخـتـزال مـرة أخـرى وبـواسطة NaBH4 ايـضـاً، وأخيراً تم أسـتلتـه (acetylation) باسـتـعمال الاستيك أنهيدرايد (acetic anthdride) فتكونت ثلاثة مركبات ناتجة :

أ ـ 2, 3, 4 ,6 - tetramethyl- 1, 5 - diacetyl- galactitol

ب ـ 2, 3, 4 - trimetlyl- 1, 5, 6 - triacetyl galactitol



5 - 9 الطرق المستعملة لدراسة التركيب البنائي للسكريات المتعددة

تستعمل الطرق التالية لدراسة التركيب البنائي لهذه السكريات :

1 ـ التحلل المائي بالحامض : تعطي هذه الطريقة معلومات عن طبيعة الآصرة والوحدة وكذلك حجم الحلقة.

2 ـ الحلل الأستيلي Acetolysis : حيث تتم معاملة السكريات مع الانهيدرايد الخليكي "Acetic anhydride" وحامض الكبريتيك لمعرفة وجود الآصرة (1,6) .

3 ـ المثيلة : يمكن التعرف على حجم الحلقة في وحدات السكر الموجودة في هذه السكريات المتعددة.

إن معظم الكاربوهيدرات موجودة في الطبيعة بشكل سكريات متعددة ذات وزن جزيئي مرتفع وتقوم بعض من هذه السكريات حياتياً كأشكال خازنة للسكريات الأحادية بينما السكريات المتعددة الأخرى تقوم بوظيفة بنائية للجدران الخلوية والأنسجة الرابطة.

عند تحلل السكريات المتعددة مائياً وبصورة كاملة بواسطة الأحماض وإنزيمات خاصة تولد سكريات أحادية أو مشتقاتها.

تسمى السكريات المتعددة بالكلايكانات (glycans) التي تختلف بطبيعة الوحدات السكرية، وبطول سلاسلها، وبدرجة التفرع (التغصن Branching). وهناك نوعان من هذه السكريات وهما :

1 ـ السكريات المتعددة المتجانسة (Homopolysaccharides) : ومنها النشا والتي تتكون من وحدات كلوكوزية فقط.

2 ـ السكريات غير المتجانسة (Heteropolysaccharides) التي تحتوي على نوعين أو أكثر من الوحدات السكرية مثل الهيالورنك "Hyaluronic acid" للأنسجة الرابطة.

5 - 9 - 1 النشا Starch

وهو من الكاربوهيدرات الاحتياطية للنباتات ويخزن في البطاطا وبذور البقوليات مثل الفاصوليا، القمح، الذرة، الرز ... الشعير... الخ. ولحبيبات النشا مظهر يتكون من طبقات متراصة بشكل حلقات دائرية أو بيضوية تعود إلى اختلاف نسبة الرطوبة فيها. وتختلف هذه الحبيبات في الحجم حيث يتراوح بين 10 إلى 100 مايكرون، وكذلك تختلف بشكلها من المصادر المختلفة للنشا عند فحصها بالميكرسكوب. ولا تذوب حبيبات النشا في الماء نظراً لوجود غلاف خارجي يحيط بمكوناتها، ولإذابتها يمزج بالماء وترفع درجة الحرارة بالتسخين فينفجر الغلاف الخارجي وتختلط محتوياتها بالماء فتذوب بالماء مكونة محلول سميك القوام جيلاتيني، والقلويات والفورمالدهايد تساعدان على الذوبان في درجة حرارة غير مرتفعة .

ويحضر النشا صناعياً من مصادره الغنية مثل الذرة والبطاطس. فعند تحضيره من البطاطا مثلاً يطحن ثم يفصل النشا عند وضع البطاطا أو الذرة في ماء يحتوي على ثاني أكسيد الكبريت (2%) في درجة حرارة (45 م) لمدة يومين أو ثلاثة حتى تتفكك الانسجة، ويكون النشا المستخرج منها ذا لون غير مرغوب به يمكن تبييضه باستعمال محاليل مخففة من هيبوكلورات الصوديوم .

ويتحلل النشا مائياً بإنزيمات خاصة، أو باستعمال الأحماض المعدنية كعامل مساعد. ويحدث التحلل المائي على خطوات تتكون فيها المركبات التالية :

نشا

↓

دكسترين

↓

مالتوز

↓

كلوكوز

وتسمى هذه المركبات (الدكسترينات) في تحضير سائل الصمغ العجينة ومقاسات الاقمشة.

البناء الكيميائي للنشا :

تم معرفة البناء الكيميائي للنشا من التجارب التالية :

1 ـ التحلل المائي الكامل.

2 ـ التحلل المائي الجزئي.

3 ـ معاملة النشا مع البروميد الاستيلي لتكوين مشتق البرومو الأستيل للمالتوز.

4 ـ مثيلة النشا.

يتضح من التجربة (1) أن النشا يتكون من وحدات كلوكوزية سداسية الحلقة تربط C_1 بـ C_4 ، كما أن التجربة (2) تشير إلى وجود المالتوز وتوكدها التجربة (3) كوحدة بنائية للنشا، كما أن التجربة (4) تؤكد علي طبيعة الآصرة الكلايكوسيدية بين الوحدات الكلوكوزية والمتمثلة بـ $1 \leftarrow 4$ و $1 \leftarrow 6$.

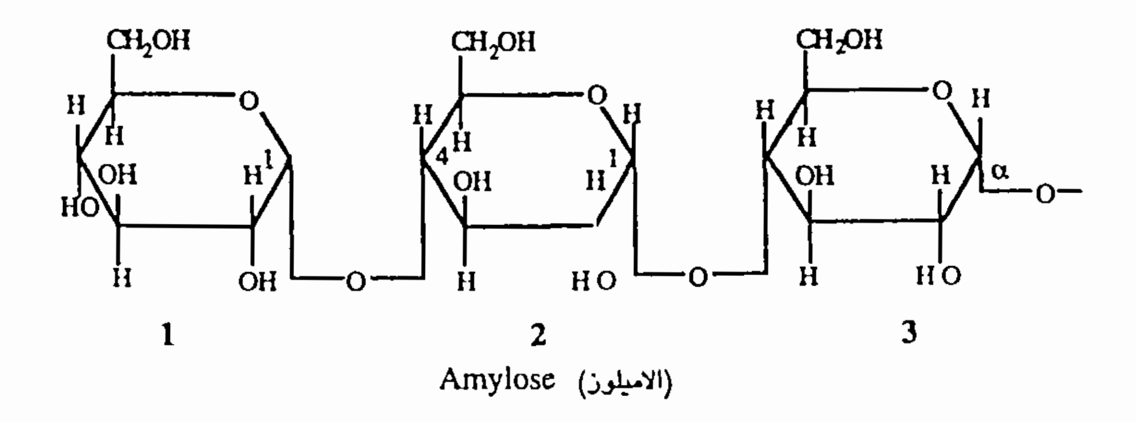
هناك طرق عديدة تستعمل لتجزيء النشا منها (استعمال الكحول البيوثيلي)، ويعتمد على أن جزيئة النشا تتركب من نوعين من متعددة الوحدات (بوليمر) :

1) Amylose (الاميلوز) 10 - 20%.

2) Amylopectin (الاميلوبكتن) 80 - 90%.

5 - 9 - 2 الأميلوز

وقد تم إثبات التركيب الكيمياوي للاميلوز بتحليلها مائياً ومعرفة نوع السكر المنفرد عنها، أما نوع الحلقة ونوع الرابطة وموضعها فأمكن إثباته بطرق كيمياوية مختلفة، منها تحضير الأيثريلوز ودراسة تركيبه، أو استعمال المؤكسدات المتخصصة (حامض فوق الايوديك). ودراسة نواتج الاكسدة يوضح أن التركيب البنائي للاميلوز عبارة عن تكرار التركيب الكيمياوي للسكر الثنائي (اميلوز)، وموضع ارتباط الوحدة المكونة للطرف الالدهايدي يمكن معرفته من نوع حامض السكاريك الذي يتكون بمعاملة السكر العديد بالقلويات، ويعتقد بوجود 1000 -4000 جزيئة كلوكوز، وأن طرق المثيلة والتحلل المائي قد أوضحت أن التركيب غير متشعب يتالف من وحدات كلوكوزية ترتبط بأواصر كلايكوسيدية $1 \leftarrow 4$، وتختلف الأوزان الجزيئية لهذه السلاسل من بضعة آلاف إلى 500 الف .



Amylose (الاميلوز)

5 - 9 - 3 الاميلوبكتن

ويوجد هذا النوع في النشا أيضاً ويتكون من الكلوكوز (الفا) الذي يحتوي على نوعين من الأواصر الكلايكوسيدية الفا (1 ← 4) والتي تشبه الأواصر الموجودة في الأميلوز، أواصر ألفا من النوع (1 ← 6) ويتصف الاميلوبكتن بتركيب متشعب "غير لولبي" تكون فيه مجموعة OH - مكشوفة أكثر وبالتالي يصبح أكثر ذوباناً في الماء .

يعتبر النشا من الكاربوهيدرات غير المختزلة ويُظهر لوناً أزرق عند معاملته باليود من خلال حبس اليود في شبكة واسعة لجزيئات النشا.

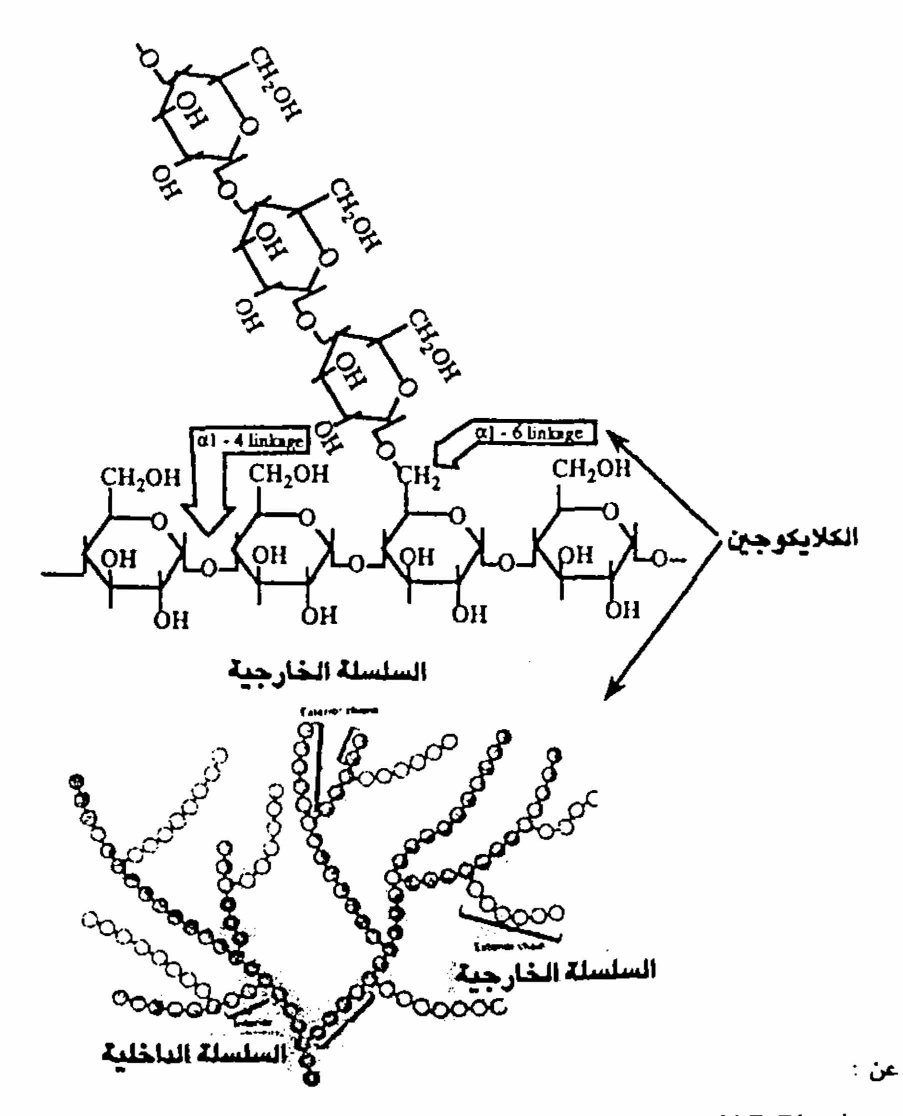
5 - 9 - 4 الكلايكوجين

يشكل هذا النوع من السكريات المتعددة المكون الرئيسي الذي تخزن فيه السكريات في الخلايا الحيوانية (الكبد والعضلات)، بينما بالمقابل يكون النشا النوع الرئيسي الذي يخزن في النباتات .

يشبه الكلايكوجين من الناحية التركيبية البنائية الأميلوبكتن حيث يكون متفرعاً يحتوي على نوعين من الأواصر الكلايكوسيدية التي تربط الوحدات الكلوكوزية الأولى من النوع 1 ← 4 والثانية 1 ← 6 .

يتواجد الكلايكوجين بصورة كبيرة في الكبد حيث تصل نسبته إلى 7% من الوزن الطري، كما هو موجود في العضلة الهيكلية، فهو في الخلايا الكبدية يكون بشكل حبيبات كبيرة ناجمة عن تجمع حبيبات صغيرة من جزيئات الكلايكوجين المتفرعة والتي يبلغ وزنها الجزيئي عدة ملايين مرتبطة بتراص .

يتـحلل الكلايكوجين بالمجـرى الهضـمي بواسطة إنزيمات الأمـيليسزات (ألفا) -α) المـطروحـة من قـبل اللعـاب والبنكرياس، حـيث يهاجمان الآصرة 1 ← 6 mylases) للفـروع الخـارجـيـة للكلايكوجين مكونة بذلك الكلوكـوز، وكمية صـغيرة من المالتوز وجـزء مقاوم للتحلل يسمى الدكسترين المحدد والذي يحتوي على الآصرة 1 ← 6 تقوم بتكسيرها إنزيمـات أخـرى تسمى بـ debranching المزيلة للتفرع أو يطلـق عليها بـ α (1→ 6) Glucosidase.



عن :

Structure, Biochemistry and Function, Second edition, Philip Sheeler, Donald E. Bianchr.

5 - 9 - 5 السللوز Cellulose

تقوم العديد من السكريات المتعددة كعناصر بنائية خارج خلوية في الجدران الخلوية للكائنات الحية وحيدة الخلية، والنباتات المتطورة، وكذلك في السطوح الخارجية للخلايا الحيوانية. أما السكريات المتعددة الأخرى فهي من مكونات الأنسجة الرابطة للفقريات، والهيكل الخارجي للمفصليات، وتوفر هذه السكريات الحماية والشكل وإسناد الخلايا والأنسجة والأعضاء .

هناك العديد من السكريات المتعددة البنائية المختلفة نذكر منها السللوز الذي يتلائم تركيبه البنائي مع وظيفته الحياتية، فالسللوز مادة ليفية، خشنة، غير ذائبة في الماء موجودة في الجدر الخلوية.

السللوز بوليمر من الكلوكوزات بشكل بيتا جزيئاته غير متفرعة، وهو بذلك يشبه الأمايلور، حيث كل ارتباطاته من النوع بيتا.

تتكون جدران الخلايا النباتية أساساً من مادة السللوز التي تكون منها حزماً سللوزية دقيقة تلتصق ببعضها بمواد لاصقة حيث تكون منها الجدران الخشبية للخلايا، وتلتصق ببعضها فتكون الألياف الطويلة التي يمكن الحصول عليها من النباتات، ويكون القطن عبارة عن سللوز نقي .

تحتوي الألياف الخشبية على مكونات كثيرة مختلطة مع السللوز مثل اللكنين، كما تختلط بالسللوز مواد كربوهيدراتية مثل الهيمي سللوز والشموع والمواد الملونة، كما توجد مركبات نتروجينية ومواد غير عضوية.

وحدات السللوز هي بيتا كلوكوبيرانوز β– D- Glucopytranose التي ترتبط ببعضها برابطة β 1,4 لتكون سلاسل طويلة غير متشعبة، وتتكون هذه الوحدات نتيجة التحلل المائي الكامل للسللوز، أما التحلل الجزئي فينتج خليطاً من dextroms (الدكسترينات)، ومختلف أنواع سكريات الأوليغو (المحدودة)، والكلوكوز.

أما التركيب البنائي للسللوز فتمت معرفته من التحلل المائي الذي يكون وحداته التركيبية وهي : سليبايوز Cellobiose، والمثيلة التي يتبعها التحلل المائي منتجاً 2, 3, 6 - trimethyl glucose ، و 2, 3, 4, 6 - tramethyl glucose مؤكداً أن السللوز لا يملك اغصاناً في تركيبه .

$$\text{[Structure: three }\beta(1\rightarrow4)\text{-linked glucopyranose units, each with } CH_2OH, H, OH, HO \text{ substituents]}$$

4-D-gluco pyranosyl-B-D-glucopyranoside

نظرا لكون السللوز خطيـاً ومن السكريات المتـجانسة غير المتفرعة ذات 10,000 أو أكـثـر وحدة كلوكوزية مرتبطة بالأواصرة 1 ← 4 وهي تشـابه الأمـيلوز والسلاسل الرئيسية للكلايكوجين، إلا أن هناك فرقاً رئيسياً، حيث أن الأواصر 1 ← 4 في السللوز من النوع بيـتا، بينما في الأميلوز والأميلوبكتن والكلايكوجين فهي من النوع ألفا.

تولد الأواصر بيـتـا في السللوز شكلاً ممتـداً تتـعـرض إلى تجميعها جنباً إلى جنب مـشكلاً ليـيـفات غير ذائبة، ويقارن هذا الشكل مع الكلايكوجين والنشا اللذان يكونان وضعية حلزونية ملتفة مكونة حبيبات مكثفة تلاحظ في الخلايا النباتية والحيوانية.

وبسـبب وجـود الأواصر بيتا في السللوز فلا يتم تحلله وهضمه بواسطة الأميليزيز ألفا (α – amylase) ولا بأي إنزيم آخـر، لذا فـلا يمكن أن يهضم عدا بعض الكائنات التي تستطيع أن تفرز الإنزيمات سليلوز Cellulose.

مسالــــة :

عند مـعاملة 200 مـلـغـم من السللوز مع البيريودات "periodate" يتـحـرر 4.12 مايكرومولات من حامض الفورميك :

أ ـ ما هو معدل الوزن الجزيئي للسللوز؟

ب ـ ما هو طول السلسلة السللوزية؟

5 - 10 السكريات المتعددة غير المتجانسة Hetropolysaccharides

يولد هذا النوع من السكريات المتعددة أثناء التحلل المائي خليطاً من سكريات أحادية ونواتج مشتقة .

5 - 10 - 1 الصموغ Gums

تنتج من قبل بعض الأشجار، وهي إفرازات نباتية تتكون من مخاليط مواد معظمها من نوع السكريات العديدة، وتحتوي على حامض كلوكيورنك D- Glucuron-ic ومعه وحدة سكر كالاكتوز D- Galactose، ومانوز D- Mannose، وارابنوز D- Arabinose.

ومن أكثر الصموغ انتشاراً هي :

أ ـ الصمغ العربي Gum Arabic.

ب ـ الصمغ أقاقيا (الصمغ العربي) Gum Arabic.

وهي ملح البوليمر لحامض الأرابيك Arabic والذي عند تحلله مائياً بصورة كاملة يعطي كالاكتوز Galactose، والأرابينوز Arabinose الذي يستعمل كمادة لاصقة . أما عند تحلله مائياً وبصورة جزئية يتكون حامض الألدوبايونك Aldobionic الذي يتكون من كالاكتوز D- Galacose وكلوكيونك D-Gkucuronic، وفي صناعة المربيات تستعمل هذه الصموغ وكذلك تستعمل بعد تعقيمها كحقن تعطى في حالات النزيف .

يطلق على السكريات المخاطية المتعددة تسميات مختلفة منها :

أ ـ الكلايكانات البروتينية Protes glycans.

ب ـ الكلايكوامينو كلايكلانات glycosoaminoglycans.

أ ـ الكلايكانات البروتينية

وهي السكريات المتعددة التي تتحد مع كميات صغيرة من البروتين (95% كاربوهيدرات، و5% بروتين)، ويسمى الجزء الكاربوهيدراتي بـ glycosaminogly-cans التي تملك وحدة سكرية ثنائية مكررة مضافاً إليها مجموعة الأستيل أو الكبريتات Glycosaminoglycans .

5 - 10 - 2 حامض الهياليورنك Hyaluronic acid

COOH, CH_2OH, H, O, HO, OH, β 1-3, $NHCOCH_3$, n

الوحدة البنائية لحامض الهياليورنك

تتكون الوحـدة البنائية لهذا النوع من السكريات المتعددة من حامض الكلوكيورنك و N ـ أسـتـيل ـ كلوكـوز أمين، وتوجـد في الأنسجة الرابطة والمفاصل وتعمل كمواد جيلاتينية لربط الأنسجة ومنع الاهتزاز بين المفاصل .

Acetylgluocosamine

CH_2OH, COOH, O, HO, OH, NH, C=O, CH_3

Glucuronic

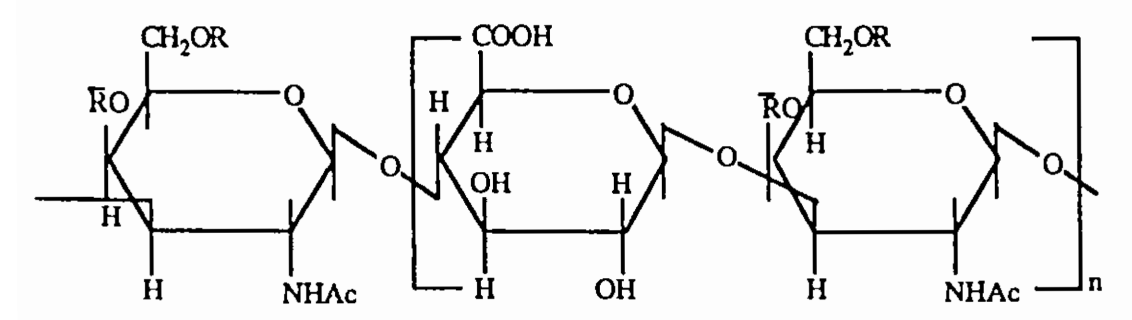
5 - 10 - 3 الكوندريوتون Chondroitin

وهو متعدد الوحدات للوحدة

β– D- glucuronide, 1, 3- N- acetyl - D- galactosamine

ترتبط مع بعضها بواسطة الآصرة (β– 1,4)، وتختلف الوحدة لهذا النوع من السكر المتعدد عن تلك الموجودة في حامض الهيالیورنك، حيث يوجد فيها المركب كالاكتوز أمين وليس كلوكوز أمين .

للكوندريوتين سلفات Chondroitin sulfate سكر ثنائي يتكون من حامض اليونك، ومشتق الكالاكتوز أمين كوحدة مكررة .



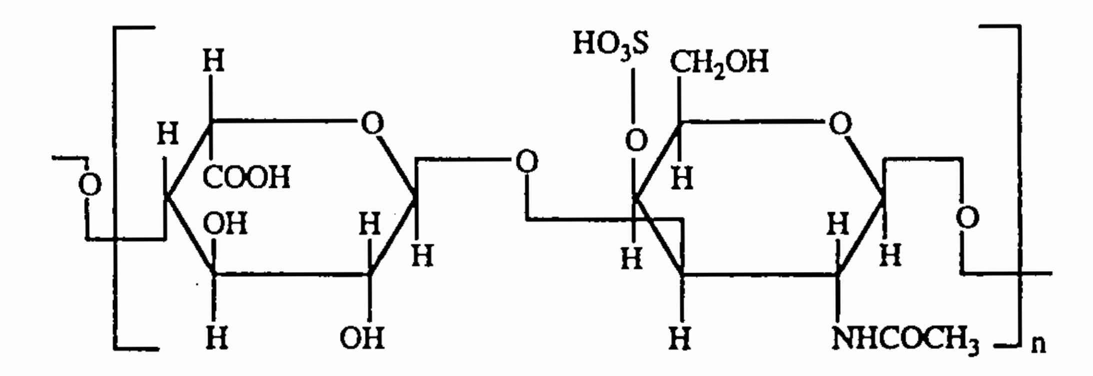
N-acetyl-D-galactose amine sulfate | D-Glucuronic acide | N-acetyl-D-galactose amine sulfate

Chondrosin

Chondroitin sulfate A : R=H, $\bar{R}$ = SO_3H

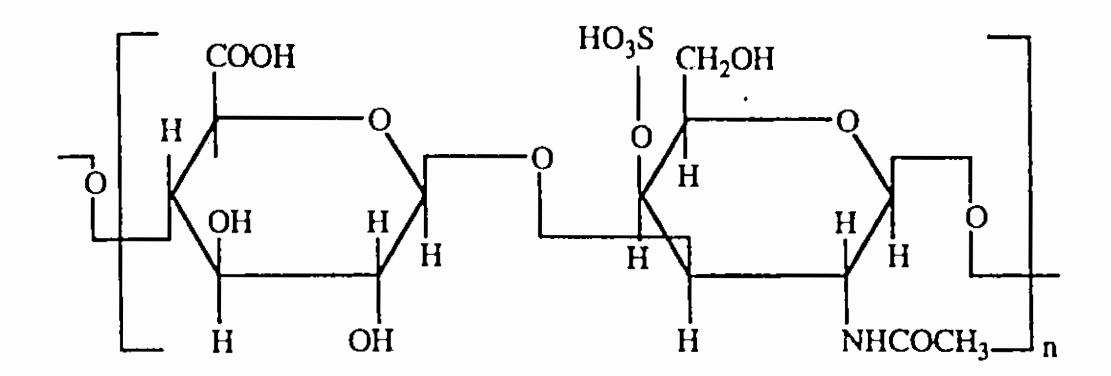
Chondroitin sulfate C: R=SO_3H, $\bar{R}$ = H

1 _ Dermatan Sugfate



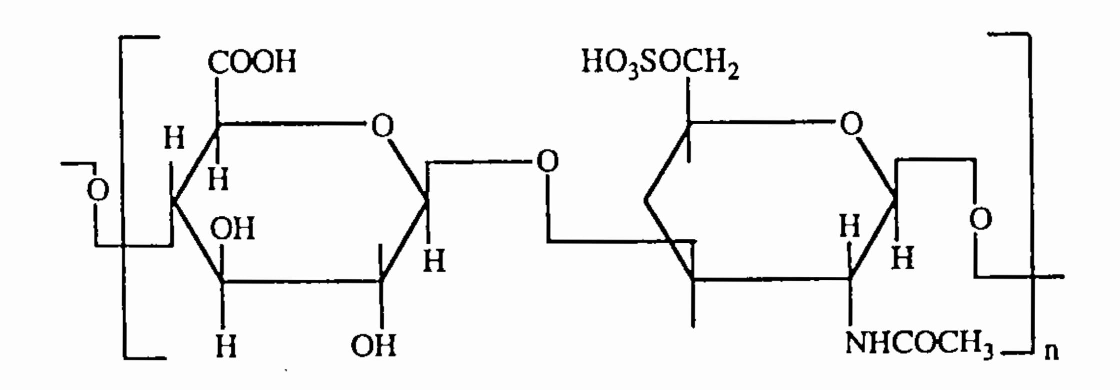
انواع الكوندريوتون :

ا - Chondroitin sultate A



الوحدة البنائية للـ Chondroitin sulfate

ب - Chondroitin sultate C



الوحدة البنائية للـ Chondroitin sulfate

المصادر

1 ـ تركيب ووظائف الخلايا/ترجمة الدكتور أحمد سعيد المرسي هولت سويدرز/ الطبعة العربية/ 1981.

2 ـ الكيمياء الحياتية/تأليف الدكتور رياض رشيد سليمان

الدكتور سامي عبد المهدي المظفر/مطبعة إشبيلية

3 - Cell Biology structure, Biochemistry, and Function, second edition philip seeler, Donald E. Bianchi, John Wiley & Sons- Inc.
Principles of Biochemistry

4 - General Aspects, White & Smith & Hill, Lehman...1981, McGRa- Hill Book Co.

5 - Biochemical calculations 2nd edition Irwin H.Segal 1976.

6 ـ الكيمياء الحيوية/الدكتور عبد الرحمن أحمد الحملاوي، الطبعة الثالثة/ 1404هـ ـ 1984م، دار القلم/الكويت.

7 - Biochemistry, Geoffrey Zubay, Macmillian Publishing company, Second edition, 1988.

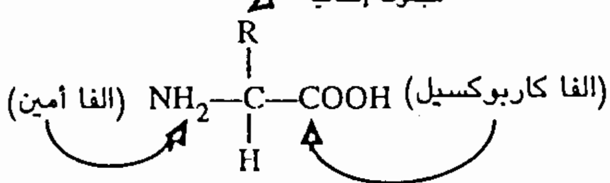
الفصل السادس

الأحماض الأمينية

6 - 1 الاحماض الامينية Amino acids

تتطلب دراسة البروتينات معرفة شاملة عن مكوناتها والتي تتمثل بالأحماض الامينية، وعليه سنحاول في هذا الفصل دراسة العديد من هذه الاحماض تفصيلياً من أجل إعطاء صورة ناضجة وواضحة عنها، وبالتالي الاستفادة منها بدراسة العديد من المركبات التي تعتبر الأحماض الامينية من مكوناتها.

تحتوي الأحماض الامينية عموماً على مجموعة الكاربوكسيل (COCH) ومجموعة الامين (NH2)، وسلسلة جانبية (R) ترتبط جميعها بذرة ألفا كاربونية وكما موضح في الشكل التالي :



R : قد تكون سلسلة جانبية مستقيمة ومشبعة، أو حلقة بنزين، أو أنواع أخرى من التركيب الحلقي، وكما موضح بعض منها في الجدول (6 - 1) القادم :

6 - 1 - 1 الصفات التركيبية البنائية للاحماض الأمينية :

ملاحظات عامة :

أ ـ هناك عشرون حامضاً أمينياً موجود في البروتينات الطبيعية، تسعة عشر منها تسمى بالاحماض الامينية الفا (α– amino acids) وتعني ألفا α . إن المجموعة الأمينية مرتبطة بذرة الكربون الأولى بعد المجموعة الكربوكسيلية، أما الحامض الأميني العشرون فهو البرولين ويسمى بالحامض الامنو ألفا (α– amino acids)

ب ـ تقسم الأحماض الامينية وفق السلسلة الجانبية وطبيعتها والتي يعبر عنها بـ R

ج ـ لغرض الاختصار تستعمل ثلاثة حروف لكل حامض أميني، فالاحامض الامينية ذات السلسلة الجانبية غير القطبية الكارهة للماء (Hydrophobic) تتمثل بـ :

1 ـ الفينال الانين (Phenylalanine - Phe).

2 ـ المثيونين (Mithionine - Met) .

3 ـ الفالين (Valine- val) .

4 ـ ليوسين (Leucine- Leu) .

5 ـ ايسوليوسين (Isoleucine- Ileu) .

أما الاحماض الأمينية المتبقية، فهي قطبية السلسلة الجانبية ومُحبة للماء، عدا الكلايسين والالانين، فهي ذات صفات وسطية بين المجموعتين المذكورتين.

2 - 6 تقسيم الاحماض الامينية Crassification of Amino Acids

تستعمل طرق متعددة لتقسيم الأحماض الامينية تعتمد على :

أ ـ ما تحتويه من مجموعات أمينية، كربوكسيلية :

1 ـ احماض أمينية متعادلة Neutral Amino Acids .

2 ـ احماض أمينية حامضية Acidic Amino Acids .

3 ـ أحماض أمينية قاعدية Basic Amino Acids.

ب ـ طبيعتها الكيميائية :

1 ـ أحماض أمينية اليفاتية Aliphatic amino acids.

2 ـ احماض أمينية اروماتيكية Aromatic amino acids.

ج ـ وجود أو غياب الكبريت

1 ـ أحماض أمينية تحتوي على الكبريت sulfur containing amino acids

2 ـ أحماض أمينية لا تحتوي على الكبريت sulfur not containing amino acids

د ـ وجود مجموعة الامنو (NH) والمجموعة الامينية (NH2)

1 ـ أحماض أمينية تحتوى على المجموعة الامينية : وهي جميع الاحماض الامينية باستثناء البرولين Proline والهيدروكسي برولين OH puoline .

ويمكن تقسيم الأحماض الامينية إلى المجاميع التالية بالاعتماد على المجاميع R وصفاتها القطبية :

1 ـ مجاميع R غير القطبية (Hydrophobic Non polor) .

2 ـ مجاميع R المتعادلة (غير المشحونة) (Uncharged) .

3 ـ مجاميع R ذات الشحنة الموجبة (Positive Charged) .

4 ـ مجاميع R ذات الشحنة السالبة (Negative charged) .

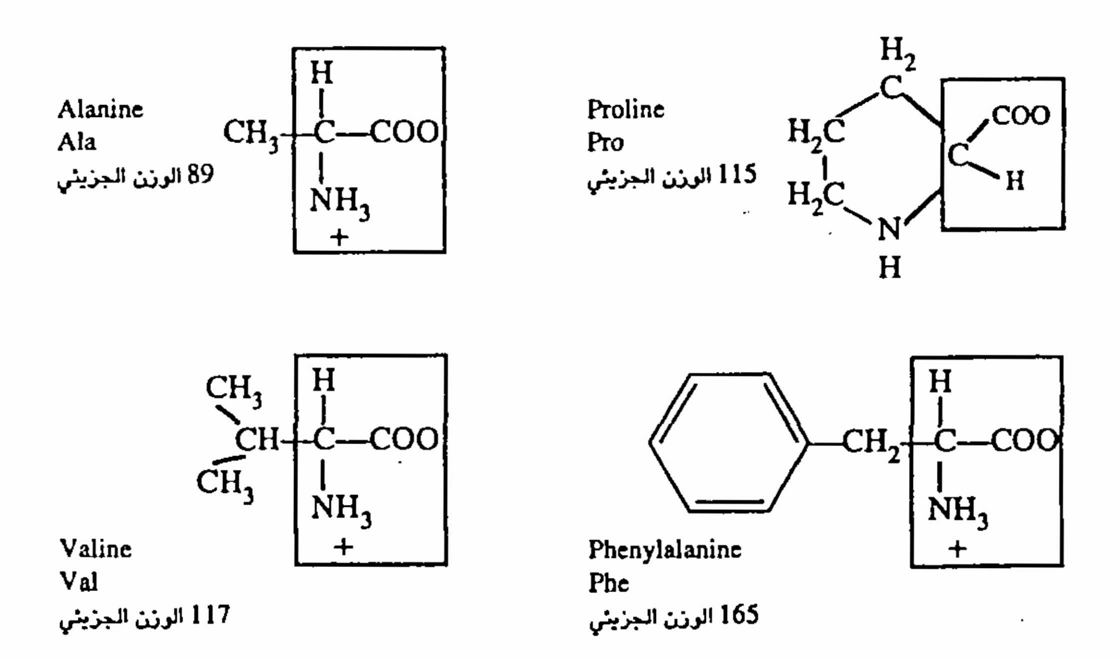
الأحماض الامينية ذات مجاميع R غير القطبية تشمل :

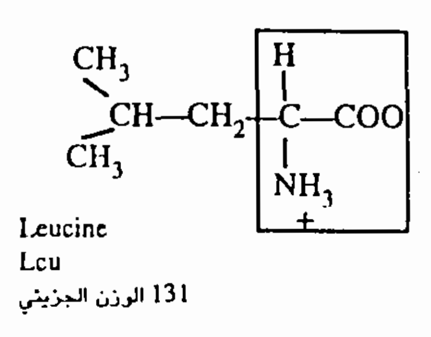
أ ـ الأحماض ذات المجاميع الاليفاتية ومنها : ألفالين، والايسوليوسين، الليوسين، الالانين، والبرولين .

ب ـ الأحماض الأمينية ذات المجاميع الاروماتيكية : ومنها الفينيل الانين والتربتوفان.

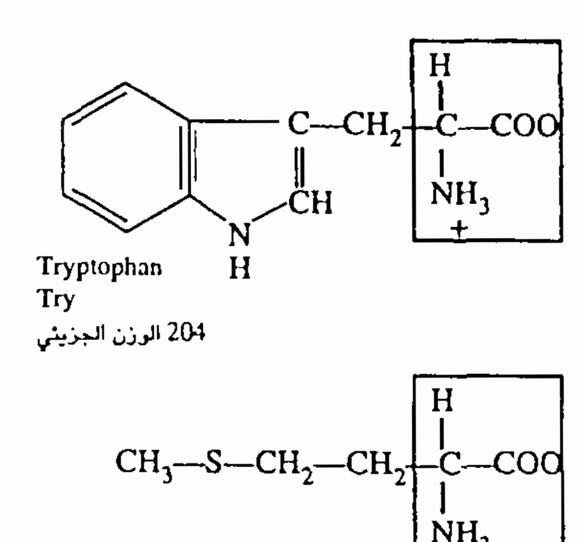
الجدول (1.6)

المجاميع R غير القطبية

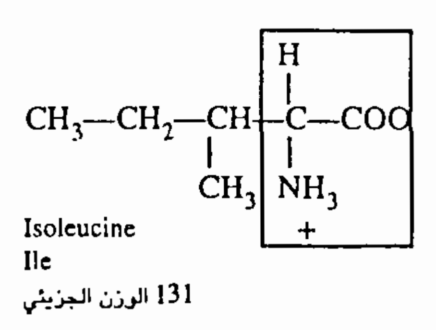




Leucine
Leu
131 الوزن الجزيئي



Tryptophan
Try
204 الوزن الجزيئي

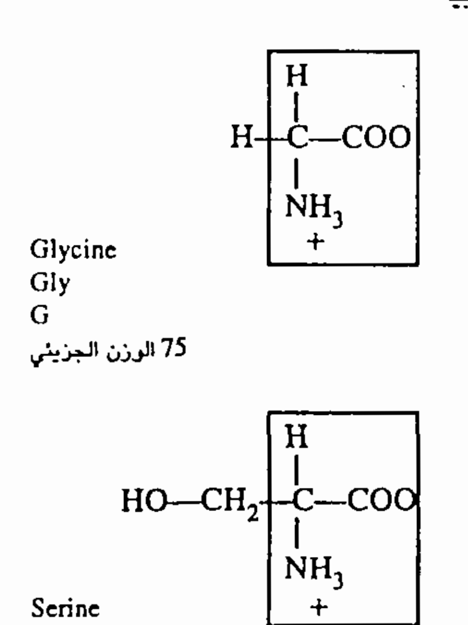


Isoleucine
Ile
131 الوزن الجزيئي

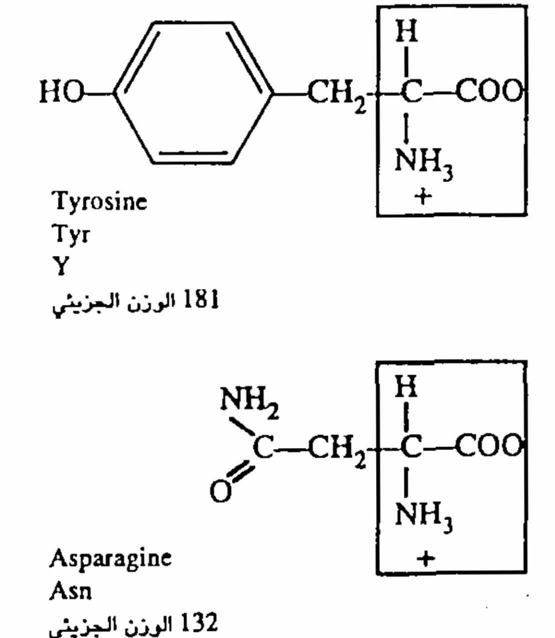
Methionine
Met
149 الوزن الجزيئي

الجدول (2.6)

مجاميع R القطبية



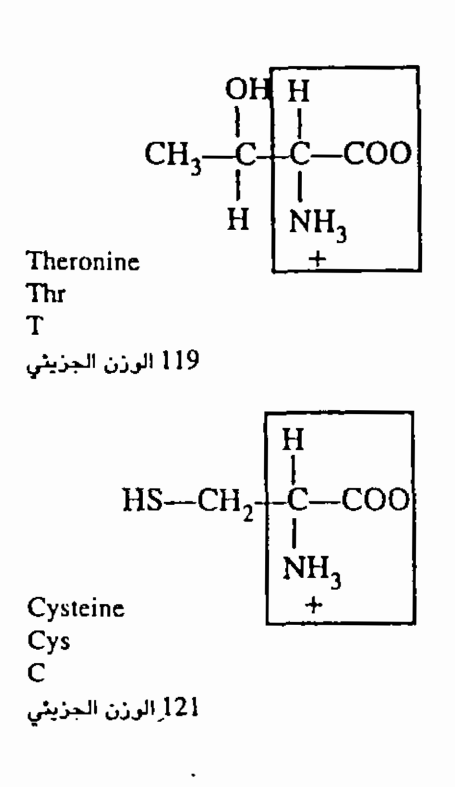
Glycine
Gly
G
75 الوزن الجزيئي

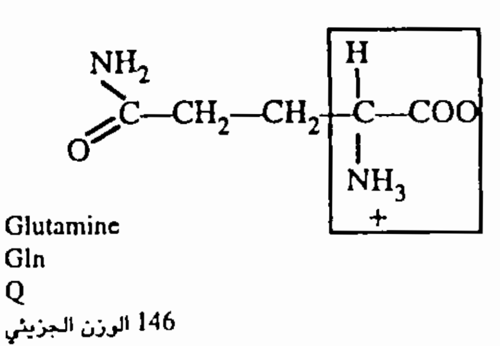


Tyrosine
Tyr
Y
181 الوزن الجزيئي

Serine
Ser
S
105 الوزن الجزيئي

Asparagine
Asn
132 الوزن الجزيئي





الجدول (3.6)

الأحماض الأمينية القاعدية (ذات الشحنة الموجبة بدرجة أس هيدروجيني ‎-7,)

المجاميع R التي تملك شحنة موجبة

Lysine
Lys
K
146 الوزن الجزيئي

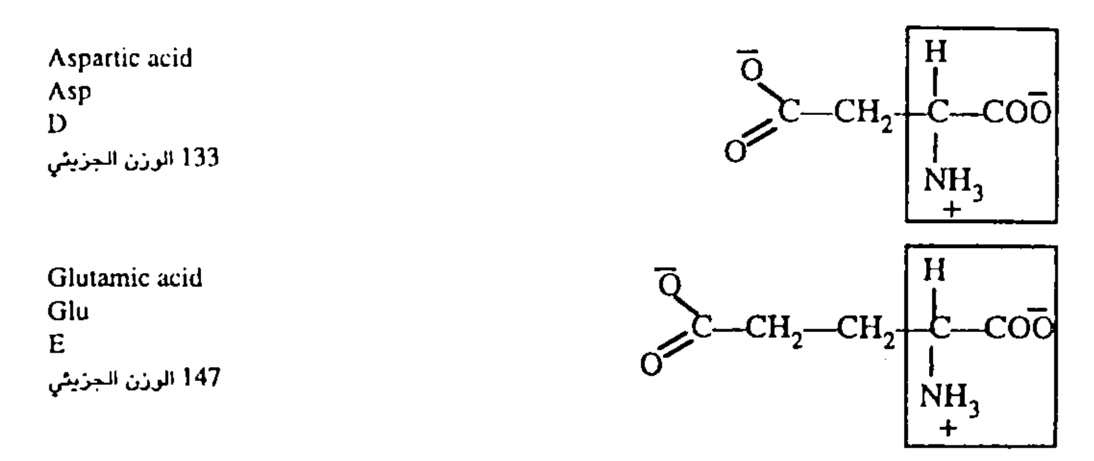
Arginine
Arg
R
174 الوزن الجزيئي

Histidine (at pH 6.0)
His
H
155 الوزن الجزيئي

الجدول (4.6)

الاحماض الامينية ذات الشحنة السالبة بدرجة أس هيدروجيني 7,-

المجاميع R ذات الشحنة السالبة



كما يمكن تقسيم الاحماض الامينية حسب ضرورتها للانسان والحيوان إلى :

أ ـ الاحماض الأمينية الاساسية Essential amino acids .

ب ـ الاحماض الأمينية غير الاساسية Non Essential amino acids.

6 - 3 الصفات الفيزياوية للاحماض الامينية

1 ـ قابلية الذوبان :

يمكن تقسيم الاحماض الامينية حسب قابلية ذوبانها في الماء إلى :

1 ـ سريعة الذوبان في الماء.

2 ـ الاحماض التي لا تذوب أو قليلة الذوبان في الكحول .

3 ـ غير ذائبة في الايثر.

1 ـ الاحماض سريعة الذوبان في الماء : مثل الكلايسين، والالانين، وغالبية الاحماض الامينية عدا، الثايروسين الذي يذوب قليلاً في الماء البارد ويذوب أكثر في الماء الساخن.

2 ـ الاحماض الامـينيـة التي تذوب في الكحـول : مثل البرولين، والهيدروكسي برولين، ولا تـذوب بقـيـة الأحماض الامـينيـة في الكحـولات وتختلف درجـة ذوبان هذه الاحماض الامينية وأملاحها، فلا يذوب في الكحول المطلق إلا البرولين، أما الكحول البيوتيلي فتذوب فيه الأحماض الأمينية المتعادلة .

3 ـ تذوب الاحماض الامـينيـة بصـورة عـامـة في الاحماض المخـففة والقواعد المخففة والتي فـيـها تتكون أملاح هذه الأحماض، فالتايروسين قليل الذوبان في الأحماض المخففة، أما السستاين (Cystine)، فـيذوب في المحاليل المركزة للأحماض المعدنية مثل الهيدروكلوريك HCI .

2 ـ درجة الانصهار "Melting point" :

تتـصف الاحماض الامـينيـة بدرجات انصـهار عالية، أعلى من 200 م وفي بـعض الحالات أعلى من 300م.

3 ـ المذاق :

تقسم الأحماض الامينية حسب مذاقها إلى :

(1) الأحماض الامينية عديمة الطعم.

(2) الاحماض الأمينية الحلوة.

(3) الاحماض الامينية المرة.

فـالاحماض الحلوة هي الكلايسين، والالانين، والفـالين، والهسـتـيدين، والبرولين، والهيـدروكسي برولين، والسيرين، والتربتـوفـان، أمـا عديمة الطعم فمثالها، الليوسين، بينما الايسوليوسين "Isoleucine" والارجنين فهي مرة المذاق.

4 ـ اللـــون : تكون الاحماض الامينية عادة عديمة اللون عندما تكون نقية.

5 ـ الشكـــل : توجد هذه الاحماض بشكل بلورات مميزة .

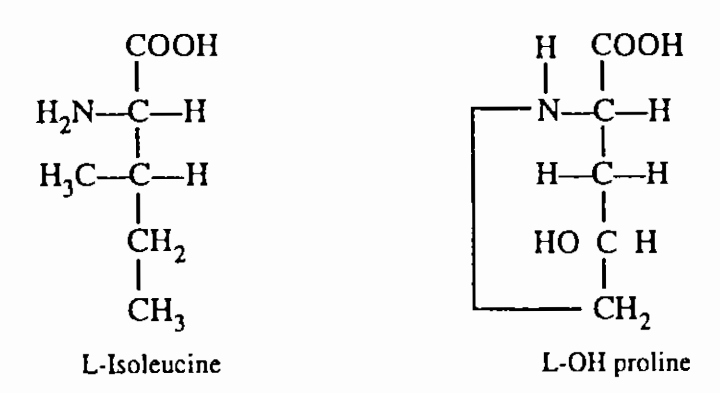
6 ـ النشاط الضوئي للاحماض الامينية :

لجـمـيع الأحماض الامـينية نشاط ضوئي عدا الكلايسين، ويعود هذا النشاط إلى

وجـود ذرة الكربون غير المتماثلة في تركيبها، بينما لا يملك الكلايسين ذرة كربون غير مـتماثلة. وتوجد هذه الاحماض بشكلين L وD، والطبـيـعية منها توجد بشكل L، أما التي تحضر كيميائيا فهي خليط من النوعين L وD :



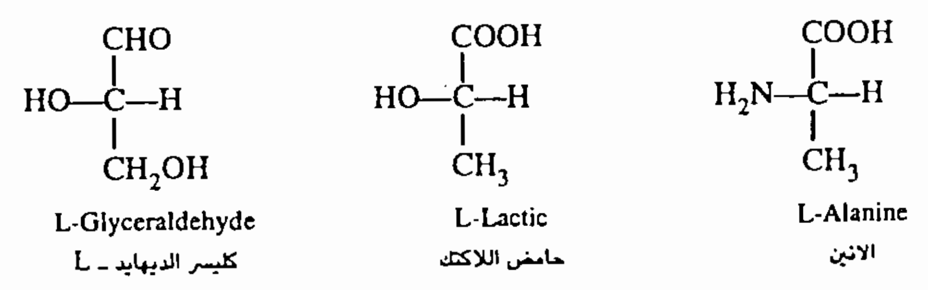
ذرة كربون متماثلة واحدة



2 من ذرات الكربون غير المتماثلة

تملك بعض الأحماض الامـينية ذرتي كـربون غير متماثلتين، مثل الزيسوليوسين، والهيـدروكسي برولين، والهيدروكسي لا يسين، والثريونين.

تملك جميع الأحماض الأمـينيـة البروتينيـة نفس الوضـعـيـة المطلقة التي يملكها الحمض الالانين L-alanine المشابهة مع الكليسر الدهايد L-glyceraldehyde :



$$\begin{array}{c} COOH \\ | \\ H-C-NH_2 \\ | \\ CH_3 \end{array} \qquad\qquad \begin{array}{c} CHO \\ | \\ H-C-H \\ | \\ CH_2OH \end{array}$$

D-Alanine
الانيــن (D)

D-Gluceraldehyde
كليسر الدهايـد (D)

ونظراً لاحـتـواء الثريونين، والسيستاين، وهيدروكسي لايسين، وايسوليوسـين على مـركـزين نشطين ضـوئياً، لذا فإن المركبات التي تتركب كيميائيا عبارة عن خليط من أربعة من المتشابهات الثنائية، اثنان منها تسمى بـ L وD والآخران بـ D- allo و L- allo.

$$\begin{array}{c} COOH \\ | \\ H_2N-C-H \\ | \\ H-C-OH \\ | \\ CH_3 \end{array} \qquad \begin{array}{c} COOH \\ | \\ H-C-NH_2 \\ | \\ HO-C-H \\ | \\ CH_3 \end{array} \qquad \begin{array}{c} COOH \\ | \\ H_2N-C-H \\ | \\ H_2N-C-H \\ | \\ CH_3 \end{array} \qquad \begin{array}{c} COOH \\ | \\ H-C-NH_2 \\ | \\ H-C-OH \\ | \\ CH_3 \end{array}$$

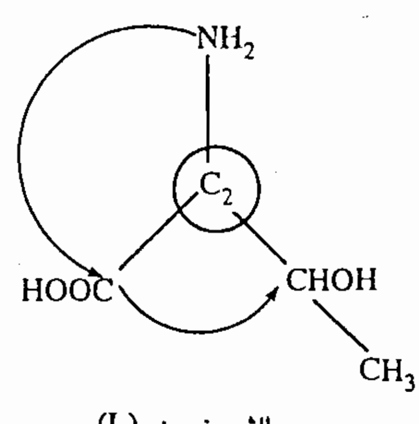
L-Threonine
L ـ الثريونين

D-Threonine
D ـ الثريونين

L-Allothreonine
L ـ آلوثريونين

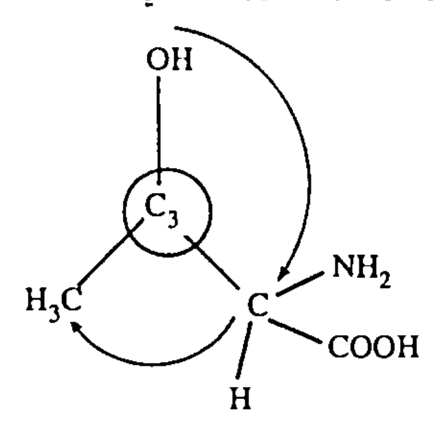
D-Allothreonine
D ـ آلوثريونين

تسمية الحامض الأميني النشط ضوئياً وفق نظام RS :



الثريونيـــن (L)
L-Threonine

نبدأ بذرة الكاربون رقم (2)، التي تتصل بها أربع مجاميع تتسلسل وفق التناقص بتكافئها (العدد الذري) وهي : H, CHOCH3, COOH, NH2 ، وتتجه بعكس عقارب الساعة، لذا يطلق على الترتيب الفراغي بـ S حول ذرة الكاربون (2) :



اما بالنسبة لذرة الكاربون (3) فيكون التسلسل للمجاميع باتجاه عقرب الساعة، ويعتبر الترتيب الفراغي من النوع R :

```
     COOH          COOH
      |             |
H2N—C—H       H—C—NH2
      |             |
     CH2—S—S—CH2
```

ميسوسيستاين
meso-cystine

```
     COOH         COOH
      |            |
H2N—C—H   H2N   C    H
      |            |
     CH2—S—S—CH2
```

سيستاين
L-Cystine

```
    COOH          COOH
     |             |
H—C—NH2   H—C—NH2
     |             |
    CH2—S—S—CH2
```

سيستاين -D
D-Cystine

7 ـ الخواص الحامضية والقاعدية للاحماض الأمينية

تملك الاحماض الأمينية الامفوتيرية لاحتوائها على مجاميع حامضية ومجاميع

قاعدية، أي إنها تتصرف كحامض أو كقاعدة، إضافة إلى ذلك فكل حامض أميني يمكن أن يظهر بأشكال متعددة معتمدة على درجة الاس الهيدروجيني (pH)، وبصورة عامة فهناك 3 أشكال :

أ ـ الشكل الانيوني Anionic form.

ب ـ الشكل الكاتيوني Cationic form .

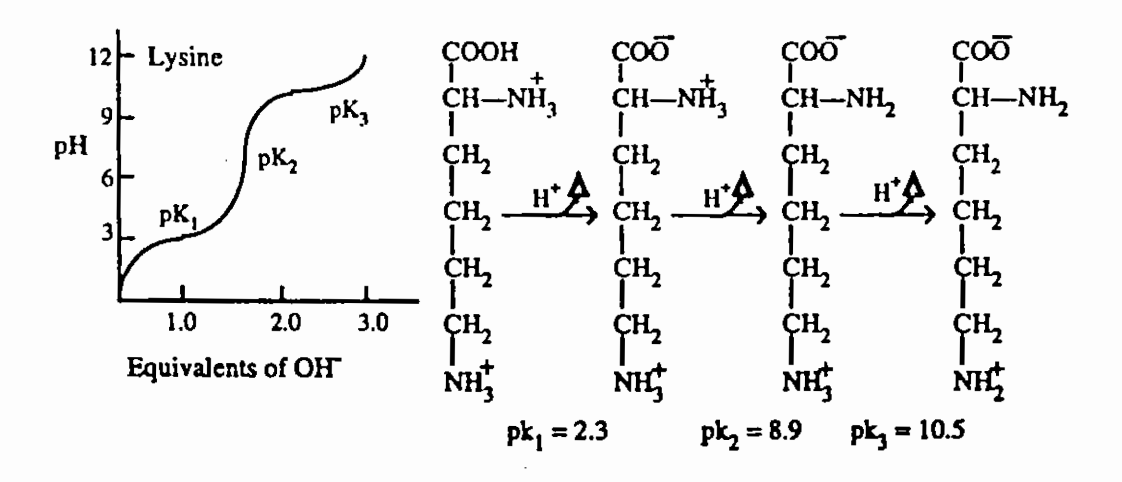
ج ـ الشكل الزويتروني (ثنائي القطبية) Zwitterionic form.

$$R{-}\underset{H}{\overset{\overset{+}{N}H_3}{C}}{-}\overset{O}{\overset{\|}{C}}{-}OH \overset{pk_1}{\rightleftharpoons} R{-}\underset{H}{\overset{\overset{+}{N}H_3}{C}}{-}COO^- \overset{pk_2}{\rightleftharpoons} R{=}\underset{H}{\overset{NH_2O}{C}}{-}\overset{O}{\overset{\|}{C}}{-}\bar{O}$$

الشحنة النهائية (+) الشكل الكايتوني	الشحنة النهائية (صفر) الشكل الزويتروني	الشحنة النهائية (-) الشكل الانيوني

اللايسين :

يمكن حساب نقطة تعادل الشحنة pI لهذا الحامض كوسط حسابي لـ pKs المجموعتين الامينتين (الالفا والابسيلون).

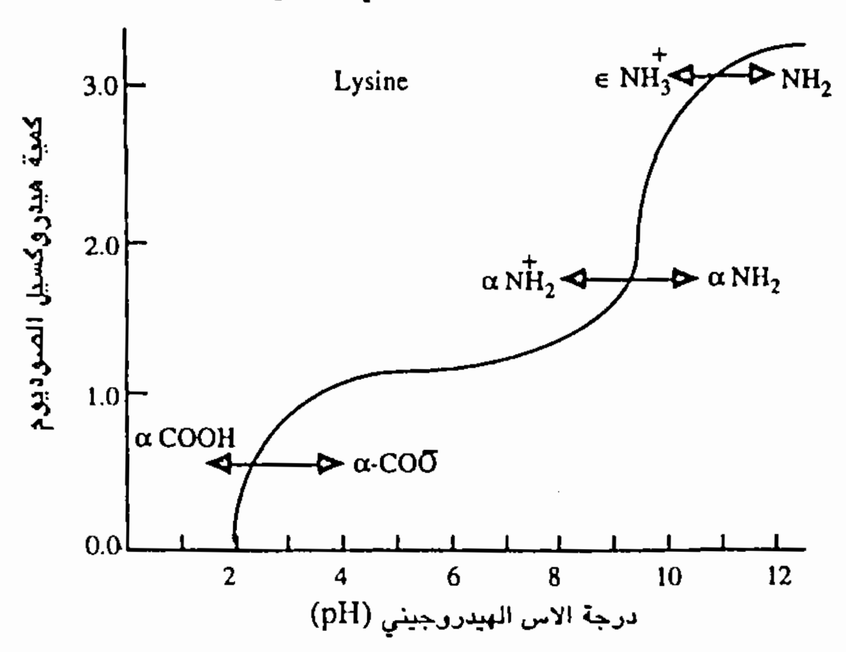


قيم الـ pk التقريبية لزوج الحامض والقاعدة المرافقة الموجود في الاحماض الامينية :

الحامض المرافق Conjugatc Acid	القاعدة Conjugatc Base	pK	المجمـــــوعة	Group
R—CH(—NH_2)—COOH	R—CH(—NH_2)—COO	2.1 = 0.5	الكاربوكسيل (ألفا)	α-Carboxyl
R—COOH	R—COO	4.0 ± 0.3	الكاربوكسيل غير (الالفا)	Non- α- carboxyl
HN, NH, R	HN, N, R	6.0	الامادوزوليبوم	Imidazolinium (His)
R—CH(—NH_3^+)—$CO\bar{O}$	R—CH(—NH_2)—COO	9,8 + 1.0	الامينو (الفا)	α- Amino
R—NH_3^+	R—NH_2	10.5	الامينو (ابسيلون)	Amino
R—C_6H_4—OH	R—C_6H_4—O	10.1	الهيدروكسيل الفينولي	Phenolic OH (Tyr)
R—NH—C(=NH_2^+)—NH_2	R—NH—C—NH_2	12.5	الكوانيدينيوم	Guanidinium (Arg)
R—SH	R—S^-	8.3	السلفهايدريل	Sulthydryl (Cys)

الشكل (1.6)

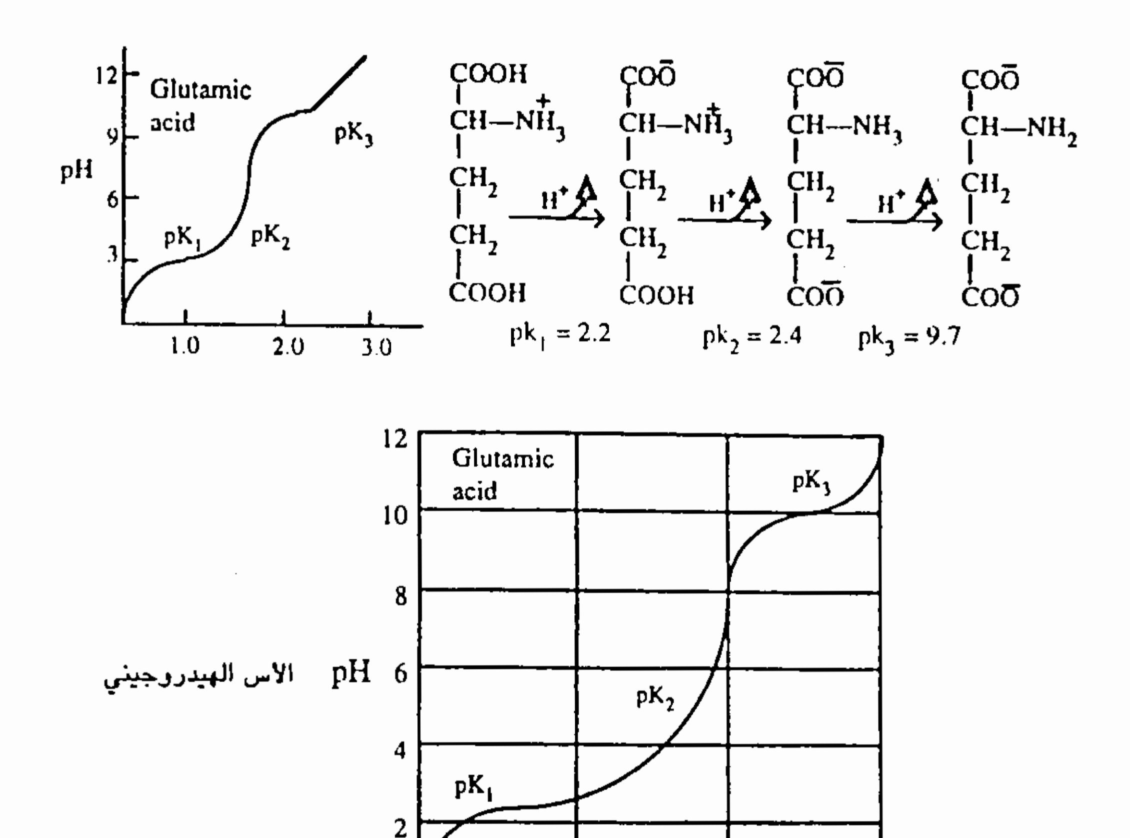
منحنى التسميح للحمس الأميني القاعدي



$$\begin{array}{c} COOH \\ | \\ CH\overset{+}{N}H_3 \\ | \\ (CH_2)_3 \\ | \\ CH_2\overset{+}{N}H_3 \end{array} \underset{pk_1 = 2.38}{\underset{H^+}{\overset{\bar{O}H}{\rightleftharpoons}}} \begin{array}{c} CO\bar{O} \\ | \\ CH\overset{+}{N}H_3 \\ | \\ (CH_2)_3 \\ | \\ CH_2NH_3 \end{array} \underset{pk_2 = 8.95}{\underset{H^+}{\overset{\bar{O}H}{\rightleftharpoons}}} \begin{array}{c} CO\bar{O} \\ | \\ CHNH_2 \\ | \\ (CH_2)_3 \\ | \\ CH_2\overset{+}{N}H_3 \end{array} \underset{pk_3 = 10.53}{\underset{H^+}{\overset{\bar{O}H}{\rightleftharpoons}}} \begin{array}{c} CO\bar{O} \\ | \\ CHNH_2 \\ | \\ (CH_2)_3 \\ | \\ CH_2NH_2 \end{array}$$

حامض الكلوتاميك :

حـامض أحادي مجموعة الامين ثنائي الكاربوكسيل، أما نقطة تعادل شـحنته (pI) فـتحسب رياضياً كوسط حسابي لــ pK كل من مجمـوعتي الكاربوكسيل. وفي هذه النقطة تتـفكك المجـموعتان نصفياً حاملتان شـحنة نهائية تقدر بــ 1- ولها القـدرة على تعادل شـحنة موجبة منفردة لمجموعة الامين :



الشكل (2.6)

تبلغ نقطة تعادل الشحنة 3,22 وهي أقل من الحامض الأميني الالانين.

6 - 4 الحساب الكمي وتشخيص الأحماض الأمينية

يعتبر الحساب الكمي للأحماض الامينية في السوائل الحياتية مهم من الناحيتين الكيميائية الحياتية، وتشخيص الأمراض.

إن الطريقة المألوفة للحساب الكمي للأحماض الأمينية تعتمد على استعمال التبادل الأيوني الموجب لفصل الأحماض الأمينية يتبعها التفاعل مع النتهايدرن والفلورسكامين (Fluorescamine)، والدانسيل كلورايد.

تبلغ حساسية الفلورسكامين 10 - 100 مرة بقدر طريقة النتهايدرن حيث تستطيع الاخيرة قياس 3×10^{-9} مول، بينما الثانية تقيس 10^{-10} - 10^{-10} مول من الحامض الاميني.

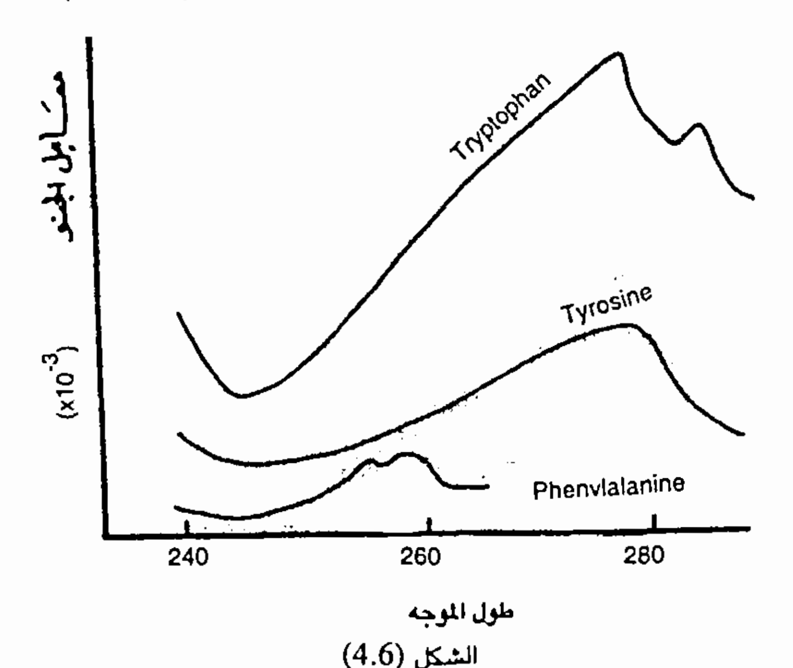
يتفاعل الفلورسكامين مع الاحماض الامينية بدرجة حرارة الغرفة لتعطي ناتجاً متألقاً .

الفلورسكامين + $H_2N—R$ (حامض اميني) ⟶ ناتج + H_2O

6 - 5 امتصاص الأشعة فوق البنفسجية للأحماض الأمينية الاروماتيكية

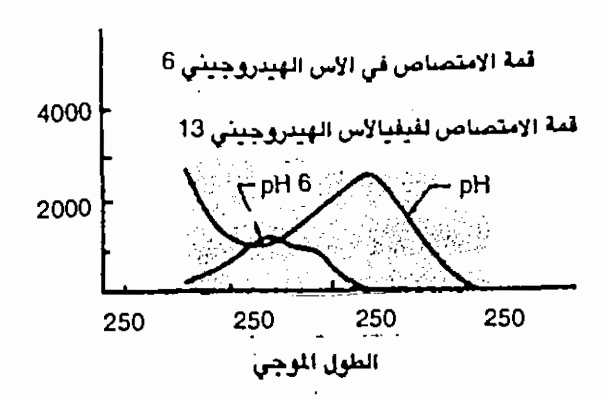
تمتص الأحماض الاروماتيكية (التربتوفان، الثايروسين، الهستيدين، والفنيل الانين) الاشعة فوق البنفسجية (انظر الشكل 6 - 3)، ويعود معظم امتصاص البروتينات في الأشعة فوق بنفسجية إلى وجود : (التربتوفان والتايروسين والفنيل الانين).

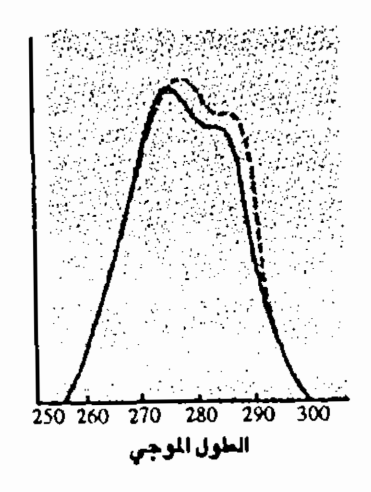
الشكل (3.6) العلاقة بين طول الموجة ومعامل الخبو (الامتصاص)



الشكل (4.6)

طيف الامتصاص للتايروسين عندما يتم ذلك في أس هيدروجيني13,6 ويلاحظ ان كل من λ_{max} ,∈ يزداد عندما يتفكك الهيدروكسيل الفينولي





الشكل (5.6)

تأثير قطبية المذيب على طيف التايروسين

المذيبات : الماء (الخط الصلب) و 20% من الايثلين كلايكول (الخط الأفقي الصغير). يلاحظ ان هناك زيادة في المذيب الأقل قطبية . عن :

Physical Biochemistry, Applications to Biochemistry and Molecular Biology.

6 - 6 فصل الأحماض الأمينية

6 - 6 - 1 كروموتوغرافيا التبادل الايوني Ion - exchange chromotography

تستعمل كروموتوغرافيا التبادل الايوني بصورة واسعة لفصل وتحليل خليط من الأحماض الأمينية، وإن الراتنج ذو التبادل الايوني هو الأكثر استعمالا لهذا الغرض هو الراتنج التبادل الايوني الموجب (Dowex- 50) (الستايرين المتعدد) وأن التركيب البنائي للراتنج :

$$\left[-CH_2-\underset{\underset{SO_3^-}{\mid}}{CH}-CH_2-\underset{\underset{SO_3^-}{\mid}}{CH}- \right]$$

ويوضع خليطاً من الاحماض الامـينية إلى العمود (Dowex- 50)، وبعدها تشطف بواسطة الدارىء في أس هيـدروجـيني مـعين وقـوة أيونيـة محددة تجـذب الشحنات الموجـبـة للاحماض الأمـينيـة إلى الراتنج بواسطة قوى كهروستاتيكية إضافة إلى ذلك فـالقوى الهيدروفوبية للاحماض الامينية في مناطق محددة تلتحم مع الحلقة البنزينية غير القطبـية. ففي أي أس هيدوجيني، هناك جزء من الحامض الامينى يوجد بأشكال ذات شحنة موجبة، فالحامض الأميني ذو نسبة عالية من الـ : $\frac{(AA^+)}{(AA^0)}$ تتحرك خلال العـمـود بأبطأ من الحـامض الامـيني ذو صفات لا قطبية متساوية لكنها تملك نسبة واطئة من الـ $\frac{(AA^+)}{(AA^0)}$ وبصـورة أخـرى، فالحامض الاميني ذو النسبة الأوطأ من الـ $\frac{(AA^+)}{(AA^0)}$ يـشطف قـبل ذلك الذي يملك نسـبـة عـاليـة (على فـرض أنهما يمـتلكان انجذابات متساوية لا قطبية نحو الراتنج).

ويعـتـمـد في التقدير السريع للشحنة المؤثرة على الحامض الأميني بمقارنة pI مع الاس الهيدروجيني للدارىء وفق ما يلي :

$$\Delta p = pI \longrightarrow pH$$

وعندما تكون قيمة الـ Δp موجبة، فالحامض الأميني يحمل عندئذ شحنة موجبة نهائية ووفق صفات الراتنج، فالحامض الذى يتصف بـ Δp أكبر يرتبط بقوة أشد إلى هذا الراتنج من الحـامض الامـيني ذي Δp الأقل وعلى فـرض أنهما يحمـلان صفات هيدروفوبية متساوية.

وعندما تكون Δp سـالبـة، يحمل الحامض الأميني عندئذ شحنة سالبة، وبالتالي يتصف بـانجذاب قليل نحو الراتنج.

مثـــال :

محلول يحتوي على الأحماض الأمينية التالية :

أ ـ حامض الاسبارتك pI = 2.98

ب ـ الكلايسين pI = 5.97

جـ ـ الثريونين $pI = 6.53$

د ـ الليوسين $pI = 5.98$

هـ ـ اللايسين $pI = 9.74$

أذيبت هذه الأحماض في محلول أسه الهيدروجيني 3.0 (الدارىء المستعمل هو الستريت)، ووضعت على عمود فيه راتنج من نوع التبادل الأيوني الموجب- (Dowex 50) تم توازنه مع نفس الدارىء وشطف من العمود. ووفق صفات الأحماض الأمينية تنزل هذه الأحماض بترتيب خاص نشير إليها في أدناه:

أ ـ حامض الاسبارتك يحمل شحنتين سالبتين ناتجتين من مجموعة الكاروبوكسيل وبالتالي، فله قيمة Δp واطئة أوطأ من بقية الأحماض الأمينية فعندئذ، ينزل هذا الحامض الأول ضمن هذه المجموعة.

ب ـ ونظراً لاحتواء الثريونين على قيمة أكبر من $\frac{(AA^+)}{(AA^0)}$ بالنسبة إلى بقية الأحماض الأمينية المتعادلة وأعلى قيمة من الـ Δp ونظرا لكونه ذا درجة قطبية عالية (OH) فهو ينزل بعد الأسبارتك وقبل كل من الكلايسين والالانين.

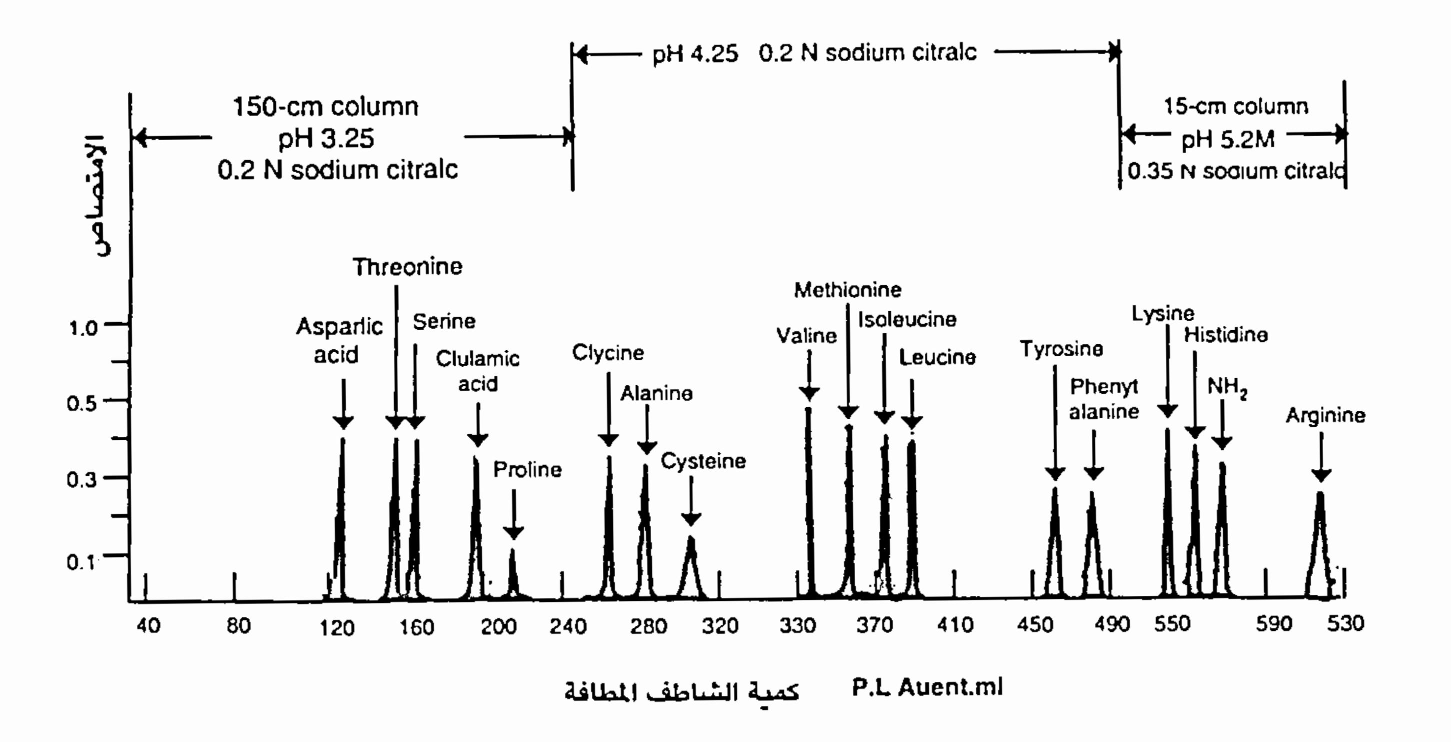
جـ ـ ونظراً لكون الكلايسين والليوسين يحملان نفس قيمة الـ Δp، وأن الليوسين أكثر لا قطبية من الكلايسين وبالتالي ينزل الكلايسين قبل الليوسين .

د ـ أما اللايسين فيملك شحنة موجبة مؤثرة عالية بسبب وجود مجموعة أمينية إضافية ($pI= 9.74$) و($\Delta p = 6.74$)، لذا ينزل اللايسين آخر هذه الأحماض الأمينية.

6 - 6 - 2 الترحيل الكهربائي

يمكن فصل الأحماض الأمينية كمركبات ذات شحنة بطريقة تعتمد على حركتها المختلفة في المجال الكهربائي وتعتمد حركة الترحيل الكهربائي على نسبة $\frac{\text{الشحنة}}{\text{الكتلة}}$.

ويمكن التعبير عن ذلك رياضياً وفق ما يلي :



pH 4.25 0.2 N sodium citralc
150-cm column
pH 3.25
0.2 N sodium citralc
15-cm column
pH 5.2M
0.35 N sodium citralc
الامتصاص
1.0
0.5
0.3
0.1
Threonine
Asparlic acid
Serine
Clulamic acid
Proline
Clycine
Alanine
Cysteine
Methionine
Valine
Isoleucine
Leucine
Tyrosine
Phenyt alanine
Lysine
Histidine
NH_2
Arginine
40
80
120
160
200
240
280
320
330
370
410
450
490
550
590
530
كمية الشاطف المطافة
P.L Auent.ml

الشكل (6 - 6)

$$\text{الحركة} = \frac{-K \Delta P}{MW}$$

$$= \frac{K (pH - pI)}{MW}$$

حيث يمثل K ثابتاً يتعلق بالفولتية والوسط، وتعرف قيمة الحركة الموجبة بكونها تمثل الاتجاه نحو القطب الموجب، أما السالبة فتشير إلى الاتجاه نحو القطب السالب.

ويمكن التعبير عن حركة الترحيل الكهربائي في أس هيدروجيني معين ووسط خاص بـ $cm^2 \times Volt^{-1}\ Sec^{-1}$

وكما موضح أدناه :

$$\text{الحركة} : \frac{\text{المسافة بوحدة زمنية}}{\text{قوة المجال الكهربائي}} = \frac{Cm/sec}{Volts/cm}$$

$$cm^2 \times Volt^{-1} \times Sec^{-1}$$

مثـــال : ما هي حركة الترحيل الكهربائي النسبية للأحماض الامينية التالية :

1 ـ الكلايسين.

2 ـ الليوسين .

3 ـ حامض الاسبارتك .

4 ـ حامض الكلوتامك .

5 ـ اللايسين.

في أس هيدروجيني 4.70 ؟

الحل :

يتحرك اللايسين أسرع من بقية الاحماض الأمينية نحو القطب السالب يتبعها الكلايسين وبعدها الليوسين، أما الاسبارتك فيتحرك أسرع من الكلوتامك ونحو القطب الموجب. ويمكن توضيح الحسابات وفق الجدول التالي :

الحامض الاميني	الوزن الجزيئي MW	PI	الحركة $\frac{PH-PI}{MW}$
اللايسين	146.2	9.74	- 0.0345
الكلايسين	75.1	5.97	- 0.0164
الليوسين	131.2	5.98	- 0.0098
حامض الكلوتاميك	147.1	3.22	+ 0.0100
حامض الاسبارتك	133.1	2.98	+ 0.0124

6 - 6 - 3 البناء الحياتي للأحماض الأمينية

يجب توفر المصدر النتروجيني من النتروجين اللاعضوي لتكوين مجموعة الأمين، وكذلك المصدر الكربوني لهيكل الأحماض الامينية، أما المصدر الكربوني فهو متنوع ويمكن اعتبار كل من المركبات التالية مصدراً مختصاً لبعض الأحماض الامينية :

(1) كليسيرك ـ 3 ـ فوسفات (Glyceric 3- p) : ويتكون منه السيستين "Cysteine"، السيرين"Serine"، الكلايسين "Glycine والسستاين "Cystine" .

(2) (ألفاكيتوكلوتارك) α - Ketoglutaric : يتكون منه حامض الكلوتامك "Glutemic" والاحماض المشتقة عنه.

(3) (حامض البايروفك) "Pyruvic acid".

(4) (البنتوسات) "Pentroses".

6 - 7 تفاعلات الأحماض الأمينية

تعتمد التفاعلات الكيميائية التي تقوم بها الأحماض الأمينية على وجود :

أ ـ مجموعة الكاربوكيل COOH.

ب ـ مجموعة الامين NH_2.

ج ـ المجاميع الأخرى التي تعطي الصفات الخاصة بالاحماض الامينية مثل الأميدازول، والثايول، والكوانيدينو SH, Guanidino, Imidazole .... الخ.

6 - 7 - 1 تفاعلات المجموعة الكاربوكسيلية

تقوم المجاميع الكربوكسيلية للأحماض الامينية بالتفاعل لتكون الأميدات، الاسترات، وكذلك الهاليدات الحامضية :

(1) مع القواعد :

عندما يستعمل هيدروكسيد الصوديوم "NaOH" للتفاعل مع الحمض الاميني يتكون ملح الصوديوم الذى يتاين إلى أيون الصوديوم والحمض الاميني.

$$R-\underset{\underset{NH_2}{|}}{CH}-COOH + NaOH \longrightarrow R-\underset{\underset{NH_2}{|}}{CH}-COONa$$

$$\downarrow$$

$$R-\underset{\underset{NH_2}{|}}{CH}.\ CO\bar{O} + Na^+$$

(2) فقدان مجموعة الكاربوكسيل :

عند تسخين الحامض الاميني بوجود هيدروكسيد الباريوم أو ثنائي الفنيل الاميني يزال ثاني أكسيد الكربون ويتكون الأمين الأولي الذي يقل ذرة كربون عن الحامض الاميني.

$$R-\underset{\underset{NH_2}{|}}{CH}.\ COOH \xrightarrow{-CO_2} R\,CH_2\,NH_2$$

$$\text{Histidine} \xrightarrow[Ba(OH)_2]{\Delta} \text{Histamine}$$

Histidine (الهستيدين): حلقة إيميدازول (H—C=, N, =C—H, C—N—H) مرتبطة بـ H—C—H ثم H—C—NH₂ ثم COOH

Histamine (الهستامين): حلقة إيميدازول (H—C—N, =C—H, C—N—H) مرتبطة بـ H—C—H ثم H—C—NH₂ ثم H

Histidine
(الهستيدين)

Histamine
(الهستامين)

(3) تكوين الأسترات :

تتفاعل الأحماض الأمينية مع الكحولات بوجود حامض الهيدروكلورك الجاف مكوناً الأستر المناسب (الأستر المثيلي).

$$R{-}\underset{\underset{NH_2}{|}}{CH}{-}COOH + HO\,CH_3 \xrightarrow[\text{التسخين}]{HCl} R{-}\underset{\underset{NH_2}{|}}{CH}{-}COOCH_3$$

$$R{-}\overset{\overset{\overset{+}{N}H_3}{|}}{\underset{\underset{H}{|}}{C}}{-}\overset{\overset{\overline{O}}{|}}{C}{=}O + HCl \longrightarrow R{-}\overset{\overset{\overset{+}{N}H_3\overline{Cl}}{|}}{\underset{\underset{H}{|}}{C}}{-}COOH + HOR$$

$$\downarrow$$

$$R{-}\overset{\overset{\overset{+}{N}H_3\overline{Cl}}{|}}{\underset{\underset{H}{|}}{C}}{-}COOR - H_2O$$

(4) يمكن اختـزال الأحماض الأمينية الحرة وأسترتها بواسطة LiAlH4 المذاب بالأيثر إلى الكحولات المناسبة.

$$R{-}CH(NH_2) \;—\; COOH + LiAlH_4$$

$$\downarrow$$

$$R{-}CH\,(NH_2) \;—\; CH_2O + H_2O$$

(5) تكوين كلورايدات الأحماض "Aminocyl chlorides" والتي تنتج من تفاعل مجموعة الكربوكسيل مع خامس كلوريد الفوسفور، بعد وقاية مجموعة الأمين بأستلتها بعده يعامل الأخير. ويمكن بعد ذلك إزالة مجموعة الأستيل بمعاملته بالهيدروكلوريك الجاف .

$$
\begin{array}{l}
\quad\;\, H-N-H \\
\qquad\;\; | \\
R-CH-COOH + (CH_3CO)_2O \longrightarrow CH_3COOH \\
\qquad\;\; | \\
\qquad\;\; H
\end{array}
$$

$$
\begin{array}{c}
CH_3CO-\overset{+}{N}-H \\
| \\
R-C-COOH \\
| \\
H \\
+ \\
PCl_5 \\
\downarrow
\end{array}
$$

$$
\begin{array}{c}
CH_3CO-N-H \\
| \\
2HCl + R-CO-Cl + HCl + POCl_3 \\
| \\
H \\
\downarrow
\end{array}
$$

$$
\begin{array}{c}
NH_3Cl \\
| \\
R-C-CO-Cl + CH_3CO-Cl \\
| \\
H
\end{array}
$$

(6) تفاعل الإحماض الأمينية مع الأمونيا :

تتفاعل الأحماض الأمينية مع الأمونيا مكونة الأميدات من خلال مجموعة الكاربوكسيل :

$$
\underset{COOH}{R-CHNH_2} + NH_2 \longrightarrow RCHNH_2\,CONH_2
$$

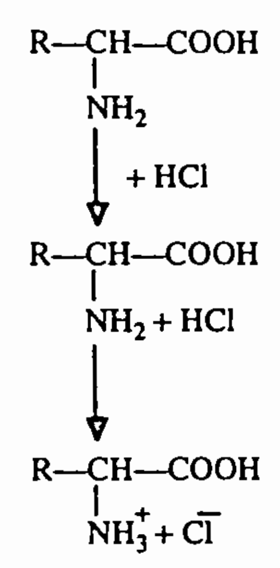
وكما تتكون الأميدات من تفاعل أسترات الأحماض الأمينية مع الكحول أو الأمونيا اللامائي (Amhydrous ammonia)

$$
\begin{array}{c}
NH_2 \\
| \\
R-C-COOC_2H_5 + HNH_2 \longrightarrow R-C-CO-NH_2 \\
| \\
H
\end{array}
\qquad
\begin{array}{c}
NH_2 \\
| \\
R-C-CO-NH_2 \\
| \\
H \\
+ \\
C_2H_5OH
\end{array}
$$

6 - 7 - 2 تفاعلات المجموعة الامينية

(1) مع الأحماض المعدنية :

يتفاعل الحمض الاميني مثلا مع حامض الهيدروكلوريك HCl مكوناً الحامض الاميني الهايدروكلورايد Amino acid HCl ، والاخير يتأين إلى أيون الحامض الاميني الموجب والكلورايد السالب حسب المعادلات التالية :



(2) أسيلة الأحماض الامينية Acylation :

أ) الاستلة acetic anhydride (Acetylation) :

حيث يتكون المشتق الاستيلي للحمض الاميني وحمض الخليك.

$$R.\underset{|\;NH_2}{CH}COOH + O\begin{cases}CH_3CO\\CH_3CO\end{cases} \longrightarrow \begin{matrix}R.CH.COOH\\ |\\ H.NCO.CH_3\end{matrix} + CH_3COOH$$

ب) بنزلة الأحماض الامينية Benzoylation :

$$C_6H_5COOH + H—\overset{H}{\overset{|}{N}}—CH_2COOH \longrightarrow H_2O + C_6H_5—\overset{O}{\overset{\|}{C}}—\overset{N}{\overset{|}{N}}—\underset{OOH}{\underset{|}{CH_2}}$$

ومع Benzyl chlouide

$$R.CH.NHH + Cl.OC-C_6H_5 \longrightarrow R.CH(COOH).NHCO-C_6H_5$$

R . CH . NHH + Cl . OC—(benzene ring)
COOH

R . CH . NHCO—(benzene ring)
COOH

Benzyl amino acid

وعند اذابة الاحماض الامينية الاسيلية N-acyl amino acids في حامض الكبريتيك يتكون مركبات الأوكسالونات أو لاكتونات azlactones أو Oxazolones

$$R-CH(NH-CO-R')-COOH \longrightarrow \text{oxazolone ring } (R-CH-CO-O-C(R')=N) + H_2O$$

ومن اكثر المواد استعمالاً للمحافظة على مجموعة الأمين هو المركب البنزيل كلوروكاربونات Benzyl chlorocarbonate والذي يكون بعد تفاعله مع مجموعة الأمين البنزلوكسي كاربونيل Benzyloxy carbonyl

$$R-\overset{H}{\underset{NH_2}{C}}-COOH$$

$+$

$$Cl-C(=O)-O-CH_2-C_6H_5$$

Benzyl chlorocarbonate
البنزيل كلوركاربونات

$\downarrow$ → HCl

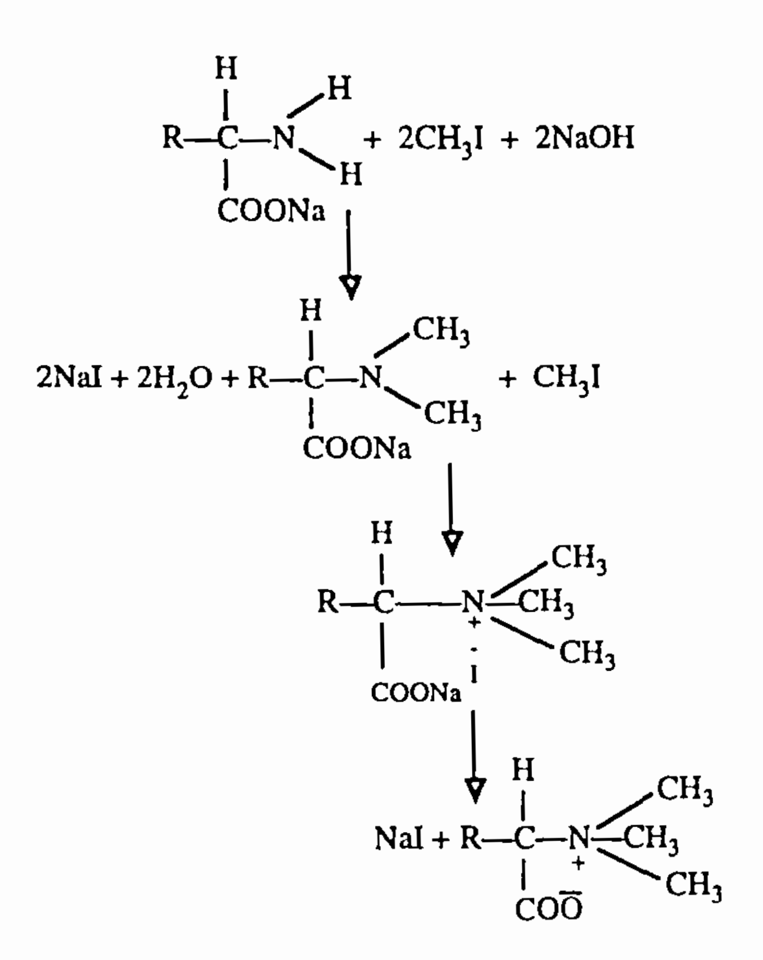
$$R-\overset{H}{\underset{NH}{C}}-COOH$$

$$NH-C(=O)-O-CH_2-C_6H_5$$

Benzyl oxycarbonyl (Carbobenaonxy1)
البنزيل اوكسي كاربونيل (كاربوبنزيلوكسي)

(3) مثيلة الاحماض الامينية Methylation of amino acids

يحدث هذا التـفاعل باستعمال مصدر مثيلي مثل المثيل ايودايد "Methyliodide"، وثنائي المثيل الكبريتي Dimethylsulfate في محـلول قـاعـدي، ويمكن توضـيح هذا التفاعل بالمعادلات التالية :



(4) مع مادة فلورثنائي النتروبنزيل :

تتفاعل هذه المادة مع مجموعة الامين وفي وسط قلوي ضعيف مكونة ثنائي النتروفنيل للحامض الاميني DNP amino acid (dinitrophenylamino acid) ذات اللون الصفر المقاومة للتحليل المائي :

$R-CH(COOH)-HN_2 + F-C_6H_4-NO_2$ 1-Fluro-2,4-dinitrobenzene

↓

$R-CH(COOH)-HN-C_6H_3(NO_2)-NO + HF$

الحامض الاميني ثنائي الدنترو الفينيلي
Dinitrophenylamino adid
(DNP aminoacid)

يستعمل هذا التفاعل لمعرفة الحمض الأميني الموجود في النهاية النتروجينية (N-terminal).

(5) تفاعل ادمان Edman reastion

تفاعل فينيل ايزوثايوسيانيت Phenyl isothiecyanate مع مجموعة الامينو (الفا) $\alpha-NH_2$ في وسط قاعدي مكوناً فنيل ثايو هايدانشون Phenyl thionhydantion

$$C_6H_5-N=C=S + NH_2-\underset{H}{\overset{R}{C}}-COOH$$

$$\downarrow$$

$$C_6H_5-\underset{}{\overset{H}{N}}-\overset{S}{\overset{\|}{C}}-\underset{H}{N}-\underset{H}{\overset{R}{C}}-COOH$$

$$\downarrow$$

$$C_6H_5-N\overline{\quad C(=O)-\underset{R}{\overset{H}{C}}-NH-\quad}C=S$$

(6) مع حمض النتروز Nitrous acid

$$R-\underset{H}{\overset{NH_2}{C}}-COOH + HONO \longrightarrow R-\underset{H}{\overset{OH}{C}}-COOH + N_2 + H_2O$$

ويسمى بتفاعل فان سلايك "Van slyke" والذي يتكون على اثره حامض الهيدروكسي مع النتروجين، والاخير يمكن قياسه لمعرفة عدد مجاميع الامين الموجودة في المركب.

(7) مع (النـنهايدرن) "Ninhydrin"

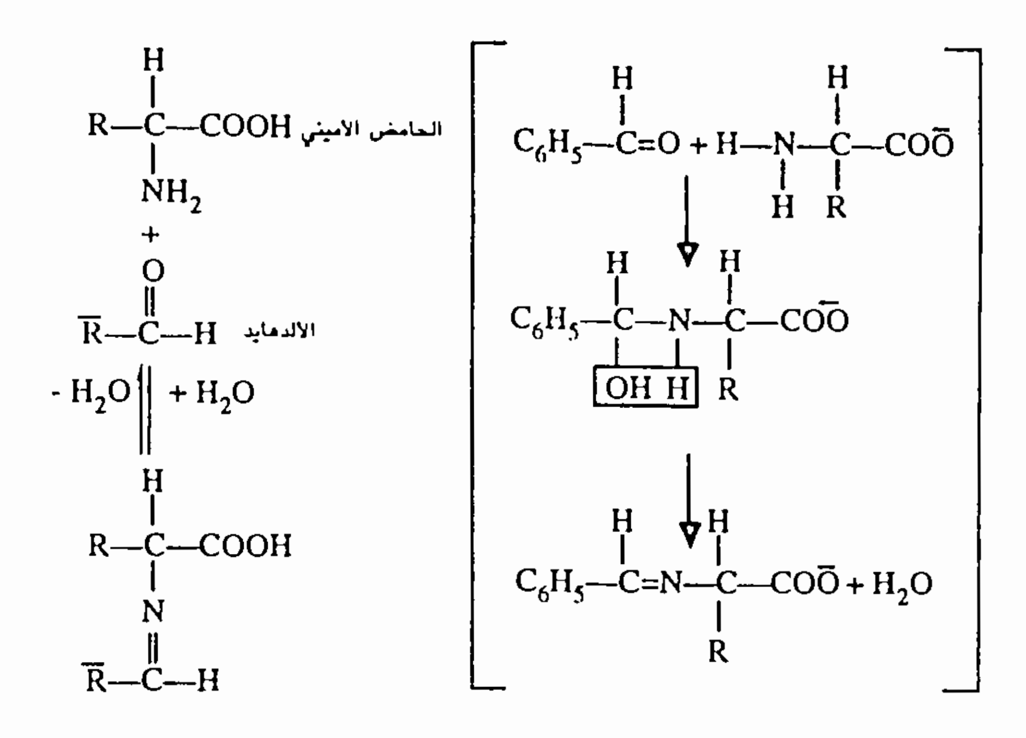
يسـتـعـمل لتـشـخـيص الأحماض الأمينية كمياً وبكميات صغيرة، فعند تسخين كميات إضافية من النـنهايدرن مع حامض أميني يحمل مجموعة أمين منفردة في الموقع ألفا مع مجموعة كربوكسيل منفردة ينتج من هذا التفاعل ثاني أوكسيد الكربون (CO_2)، الامونيا، ويتفاعل الاخير مع النـنهايدرن Ninhydrin مكوناً مركباً لونه أزرق أو بنفسجي، وتم تقدير هذه الاحماض كمياً إما بتقدير "CO2" المتصاعد أو اللون البنفسجي، بينما يتكون لون أصفر من الحامض الأميني البرولين.

$$\text{C}_6\text{H}_4(\text{CO})_2\text{C}(\text{OH})_2 + \text{R—CH}(\text{NH}_2)\text{—COOH} \longrightarrow \text{C}_6\text{H}_4(\text{CO})_2\text{CH—OH}$$

$$\longrightarrow \text{R—CH=O} + CO_2 + NH_3$$

(8) تكوين القواعد شف "Schiff"

تتفاعل الالدهايدات الاروماتيكية مع الأحماض الأمينية في محيط قاعدي مكونة (قواعد شيف).



(9) مع الفورمالدهايد dimethylol amino acids

يضاف الفورمالدهايد إلى المجموعة الأمينية مكوناً :

$$R-\underset{H}{\overset{\overset{+}{N}H_3}{C}}-CO\bar{O} + H\bar{O} + 2CH_2O \rightleftharpoons R-\underset{H}{\overset{HOH_2C-N-CH_2OH}{C}}-CO\bar{O} \quad H_2O$$

Zwitterion
الزويتريون

(Dimethylol amino acids)
الاحماض الامينية ثنائية ـ المثيول

(10) مع ثاني أوكسيد الكربون :

عندما يمر ثاني أوكسيد الكربون في محيط قاعدي للحمض الأميني مكوناً الحامض الكاربامينو "Carbamino" أو الكاربوكسي امين "Carboxy amino":

$$
\begin{array}{c} H-N-H \\ | \\ R-C-CO\bar{O} \\ | \\ H \end{array} + O{=}C{=}O \longrightarrow \begin{array}{c} H-N-COOH \\ | \\ R-C-CO\bar{O} \\ | \\ H \end{array} + O\bar{H}
$$

$$
\downarrow
$$

$$
\begin{array}{c} H-N-COO \\ | \\ R-C-COO \\ | \\ H \end{array} + H_2O
$$

ايون الكاربوكسي امينو (Carboxy amino)

(11) تكوين ثنائي الكيتوبابيريزين Diketopiperazines :

$$
\begin{array}{c} H\quad O \\ |\quad \| \\ R-C-C-OC_2H_5 \\ | \\ H-N-H \end{array} + \begin{array}{c} H\quad H \\ |\quad | \\ H-N-C-R \\ | \\ C_2H_5O-C= \end{array} \longrightarrow
$$

$$
\begin{array}{c} H\quad O\quad H\quad H \\ |\quad \|\quad |\quad | \\ R-C-C-N-C-R \\ |\qquad\quad | \\ 2C_2H_5OH + H-N-\!\!-\!\!-C{=}O \end{array}
$$

Diketopiperazines

6 - 7 - 3 تفاعل الاحماض الامينية الكبريتية

(1) تتعرض الاحماض (السيستين والسيستاين) إلى الأكسدة والاختزال، فبالاكسدة يتحول السيستين Cysteine إلى السيستاين Cystine وبالاختزال يحدث العكس :

Cystine

—S—S— $\xrightarrow[\text{اختزال}]{\text{اكسدة}}$ Cysteine—SH

يحدث الاختزال باستعمال الخارصين أو القصدير في وسط حامضي أو بواسطة

الصـوديوم في الامـونيـا، أو بواسطة سـيانيد البوتاسيوم، أو كبريتيت الصوديوم. أما الاخـتـزال فـيـجـري باستعمال مركبات تحتوي على مجموعة كبريتيد (SH—) مثل، حامض الثايوكلايكولك "thioglycolic" وفي وسط قلوي أو متعادل.

أمـا الأكسدة فتحصل بواسطة الاوكسجين في وسط قلوي ضعيف وفي وجود آثار من أملاح الحديد لتقوم بعمل مساعد :

COOH
|
H_2N—C—H L-cysteine
|
CH_2
|
SH

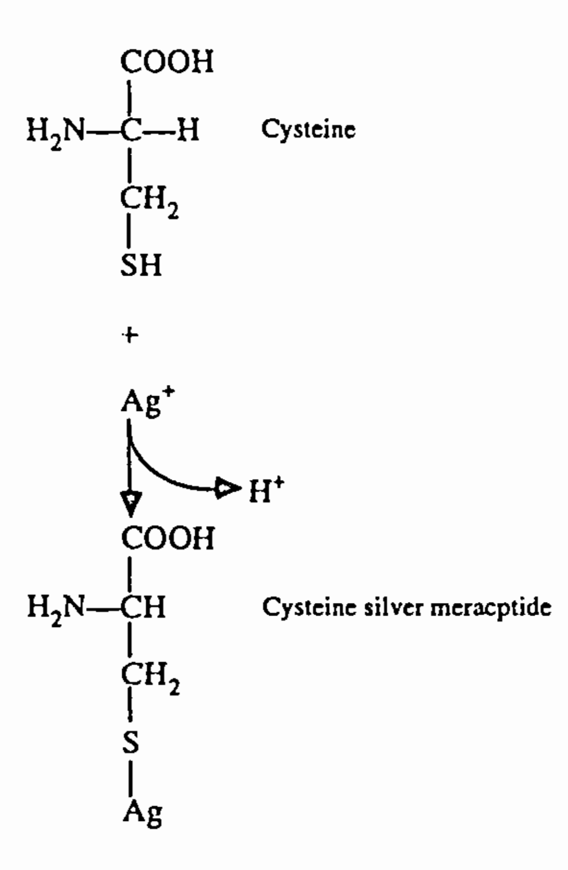
+

SH
|
CH_2
|
H—C—NH_2
|
COOH L-cysteine

↓ → 2H

COOH COOH
| |
H_2N—C—H H_2N—C—H L-cystine
| |
CH_2—S——S——CH_2

(2) تفاعل السيستين Cysteine مع المعـادن الثقيلة : يتفاعل السيستين Cysteine مع المعادن الثقيلة مثل Ag^+, Hg^{+2} لتكون الـ (المركبتايدات) Mercaptides :.



(3) تقـاس كـمية الثايول في السيستين (Cysteine) الحـرة في البـيتيدات والبروتينات باستعمال طريقة ادمان (Edman) المعتمدة على التفاعل التالي :

بين الحامض الأميني الذي يحتوي على SH ومادة الـ : ـ

+

5.5- Dithiobis- (2-nitro benzoic acid)

في : الاس الهيدروجيني 8

+

السيستين Cysteine

Thionitrobenzoic acid

(يمتص عالياً في الطول الموجي 412 نانومتر) $\lambda_{max} = 412$ nm.

NO_2

COOH

S

S

COOH

NO_2

\+

SH

CH_2—CH—COOH

NH_2

NO_2

S

S

CH_2—CH—COOH

\+

SH

NH_2

COOH

NO

Thionitrobenzoic

(الثايونايتروبنزويك)

(4) اخـتـزال الحـامض الأمـيني السستاين Cystine : يمكن اخـتـزال هذا الحـامض باستعمال مركابتوثيناول "mercaptoethanol" مكوناً جـزيئين من الســســتاين Cysteine حسب التفاعل التالي :

$$\begin{array}{ccc} COOH & & COOH \\ | & & | \\ H_2N-C-H & & H_2N-C-H \\ | & & | \\ CH_2 - & S - S & - CH_2 \end{array}$$

$$+$$

$$\begin{array}{c} SH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CH_2OH \end{array}$$

$$\rightleftharpoons$$

$$\begin{array}{c} COOH \\ | \\ H_2N-C-H \\ | \\ CH_2 \\ | \\ SH \end{array}$$

Cysteine

(السيستين)

$$+$$

$$\begin{array}{c} CH_2OH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ S \\ | \\ S \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CH_2OH \end{array}$$

Di-β-hydroxyethyl diisulfide

6 - 8 الببتيدات Peptides

وهي المركبات متعددة الاحماض الامينية والمتصلة ببعضها بأواصر ببتيدية (Peptide bonds) وتلعب أدواراً مختلفة تعتمد على نوع المركب الببتيدي وتتكون الببتيدات في المجرى المعوي نتيجة هضم البروتينات بواسطة الإنزيمات البروتيزات "Proteases" التي تكسر الآصرة الببتيدية.

من المعروف أن الآصرة الببتيدية هي الوحيدة تساهمية النوع وقد استعملت الطرق الفيزيائية والكيميائية مثل تكسير الببتيدات بواسطة الإنزيمات أو المواد المختلفة الكيميائية والقياسات الفيزيائية المختلفة مثل، الامتصاص في منطقة الاشعة فوق البنفسجية والاشعة فوق الحمراء. إضافة إلى ذلك فإن الاشعة السينية قد أكدت وجود الآصرة الببتيدية.

تنشأ هذه الآصرة نتيجة اتحاد مجموعتي الكاربوكسيل والامين مع فقد جزيئة ماء.

Cell Biology Phillip sheeler Donald E. Bianchi عن

وتقسم هذه المركبات اعتماداً على عدد الاحماض الامينية إلى:

أ ـ ثنائية الببتيدات Dipeptides : وتتكون من وحدتين من الأحماض الأمينية.

ب ـ ثلاثية الببتيدات Tripeptides : تتكون من 3 وحدات من الأحماض الأمينية.

ج ـ رباعية الببتيدات Tetrapeptides : وتتكون من 4 وحدات من الاحماض الأمينية.

د ـ وهناك أمثلة أخرى مثل الخماسية، السداسية، السباعية ....الخ.

وهذه الانواع المذكـورة أعلاه تتبع مجموعة الببتيدات المحدودة (Oligopeptides). ويجب التاكـيد هنا بأن عدد الاواصر الببتيدية أقل بواحد من عدد الأحماض الأمينية.

6 - 8 - 1 التركيب البنائي

للسلسلة البـبتيدية نهايتان الاولى تحتوي على وحدة حامض أميني ذات مجموعة أمين حرة وتسمى بـ (حمض أميني في النهاية الامينية N-terminal amino acid)، أما النهـاية الثـانيـة، ففيها مجموعة كربوكسيل غير مرتبطة تسمى بالحامض الاميني في النهاية الكربوكسيلية (C- terminal amino acid).

6 - 8 - 2 الآصرة الببتيدية

تتميز هذه الآصرة بما يلي :

أ ـ تعتبر هذه الآصرة مزدوجة جزئياً .

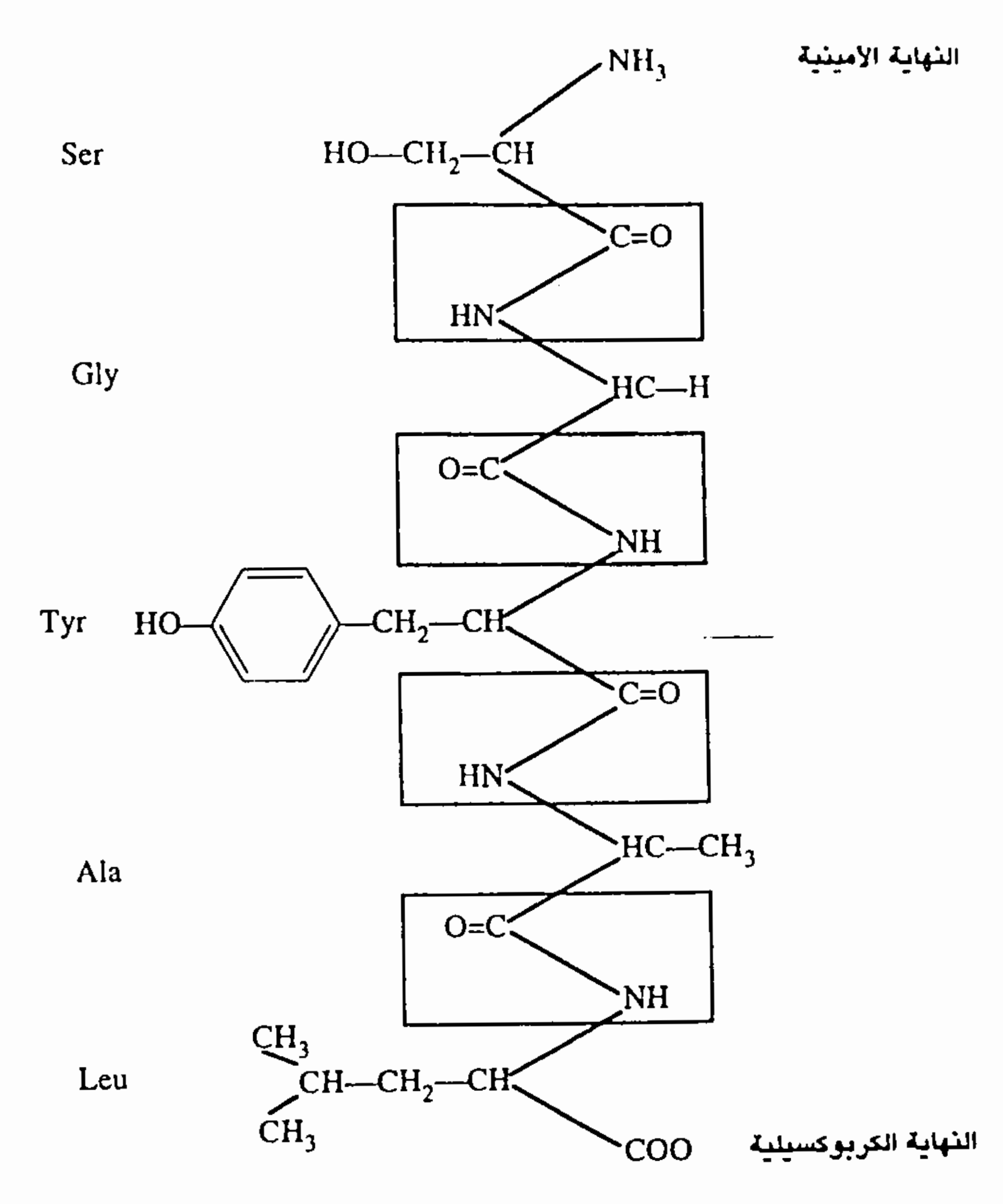
$$-\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{C}-\underset{\underset{\displaystyle H}{|}}{\ddot{N}}- \longrightarrow -\overset{\overset{\displaystyle \bar{O}}{|}}{C}=\underset{\underset{\displaystyle H}{|}}{N^{+}}$$

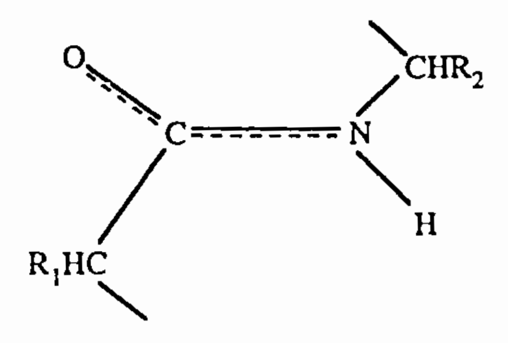
تتمتع بصفة الروزنانس

ب ـ نظرا لكون الآصرة البـبتيدية O—N مـزدوجة، لذا فهي مستوية وتوجد بشكلين السـزوالترانس ويفضل الاخير نظراً لوجود الإعاقة الفراغية للمجموعة R بالشكل سـز :

(التركيب البنائي للببتيدات الخماسية (النهاية النتروجينية والكربونية)

Seryl glycyl tyrosyl alanyl leucine (Ser- Gly- Tyr- Ala- Leu)





جـ ـ تقع الذرات الاربعـة للآصرة البـبتيدية وذرتي الالفـا كاربون المتعاقبة في مستوى منفرد، وإن الـ H و O بشكل ترانس.

د ـ الآصرة البـبـتـيدية صلبة إلا أن المستويات تدور حول الكاربون الفا، أي لا توجد حـرية للدوران حول الآصرة نفسها مما يجعل من الآصرة أن تكون مستوية.

6 - 8 - 3 الصفات القاعدية والحامضية للببتيدات :

للبـبـتـيـدات درجات انصهار عالية، مما يساعد على إمكانية تبلورها من المحاليل المتعادلة بشكل أيوني وقطبي الصـفـات. تعود الصفات القاعدية والحامضية للببتيدات إلى المجـاميع النشطة غير المكونة لأواصر ببتيدية. ونظراً لابتعاد المجاميع الأمينية الحرة عن المجـامـيع الكربوكسيلية الحرة أكثر من المسافة الموجودة في الحامض الأميني فإن هذا يؤدي إلى ضـعف في التـصـادم الكهربائي وغيره بينهما وتصبح حينئذ قيم ثابت التفكك pK لمجاميع الالفا كاربوكسيل أكبر من المجاميع الكربوكسيلية نفسها الموجودة في الاحماض الامـينيـة، بينما هذا الثـابت للمجاميع الامينية أقل قيمة من تلك الموجودة في الاحماض الأمينية (انظر الجدول 6 - 5).

تسحيح الببتيدات

إن حـسـابات الدارىء والتـسـحـيح للبـبـتيدات تتم بنفس الطريقة التي تتم بها الحـسـاب بالنسـبـة للأحماض الامـينية والاحماض متعددة البروتون، وإن الحامض الامـيني الذي يحمل المجـاميع الكاربوكسيلية والتي تساهم في تكوين الآصرة الببتيدية لا يتم تسـحيحها، كما إن التركيب البنائي للـ glutamyl seryl glutamylvalihe ذات

البروتونات تتـميز بكون مجموعة الكاربوكسيل ألفا (α-COOH) لها pKa =2.5 ، كما إن كـل مــن الكاربوكـسيـل (كَامـا) γ - COOH لهـا pKa يبلغ 4.0 وإن المجمـوعة الكاربوكـسـيليـة تصبح أكثر ضعفاً من ناحية الحموضة عند ارتباط مجموعة الأمين للفـالين ضـمن الآصرة الببتيدية. ويوضـح الشكل (6 - 7) منحنى التـسحيح النظري لهذه الببتيدات.

الجدول (6 - 5)

ثابت التفكك للاحماض الأمينية والببتيدات

اسم الحامض الأميني	ثابت التفكك	
أو الببتيد	الألفا كاربوكسيل	الألفا امين
Gly	2.34	9.6
Gly-Gly	3.06	8.13
Gly-Gly-Gly	3.26	7.91
Ala	2.34	9.69
Ala- Ala- Ala- Ala	3.42	7.44
Ala- Ala- Lys- Ala	3.58	8.01
Gly- Asp	2.81	8.60

منحنى التسحيح للببتيد الرباعي

الشكل (6 - 7) Glutamyl seryl glutamyl valine.

~ 9.5
pHm = ~6.75
pH ~4
pI = ~3.25
~ 2.5
0
0.5 1.0 2.0 3.0 3.5 4.0
Moles OH^-/mole peptide-HCl

$$pH_m = \frac{pK_{a1} + pK_{a2}}{2}$$

$$= \frac{2.18 + 8.95}{2}$$

$$= 5.57$$

```
                     H            H     O           O   H    H
                     |       H    |     ||     H    ||  |    |
(pKa3= ~9.5) H3N+-C—C—N—C—C-N-C—C—N—C-COOH(pKa1= ~2.5)
                     |   ||       |       H    |            |
                    CH2  ||      CH2          CH2       H—C—CH3
                     |   O        |            |            |
                    CH2          OH           CH2          CH3
                     |                         |
                    COOH                      COOH
                 pKa2 = ~4                  pKa2 = - 4
```

Alanyi glutamyl glycyl Iysine ببتيد رباعي يحمل مجموعتين أيونيتين

```
             +
            NH3
             |
Ala         CH—CH3
             |
           O=C
             |
Glu          N—H
             |
            CH—CH2—CH2—COO
             |
           O=C
             |
            NH
             |
Gly         CH2
             |
           O=C
             |
             N—H
             |
Lys         CH—CH2—CH2—CH2—CH2—NH3+
             |
            COO-
```

6 - 9 تسلسل الببتيدات المتعددة Polypeptides

وهي السلسلة الببتيدية الطويلة التي تحتوي على عدد كبير من الأواصر الببتيدية، ويمكن تسـمـيـة هذه المركـبـات بالبروتينات إذا كـان عدد الأحماض الأمينية في هذه المركبات أكثر من 100 حامض أميني.

1 ـ التحلل المائي الجزئي للسلاسل الببتيدية المتعددة :

يتبع تشخيص النهايتين الكربونية والنتروجينية للسلسلة الببتيدية المتعددة قياس ترتيب الاحماض الامـينيـة، وذلك بتقطيع السلسلة إلى قطع صغيرة ببتيدية باستعمال التـحلل المائي الحـامضي، ويعـتقد أن الطريقة الفضـلى لعملية التحلل هذا هو استعمال الإنزيمات المحللة للأواصر البـبـتيدية مثل التربسين الموجود في الأمعاء الصغيرة الوارد من البنكرياس ويقـوم هذا الإنزيم بتـحليل الأواصر البـبـتـيـدية والتي تهب جـزئهـا الكربوني من اللايسين أو الارجنين وهناك إنزيمات أخـرى كـالكيموتريسن، والبيسـين، والـثـرمـولايـسن، والأخير أحـد الإنزيمات المحلله للأواصر الـبـبـتـيـدية والتي تقـوم الاحماض الامـينيـة غير القطبية مثل الليوسين Leucine والايسـوليوسين Isoleucine والفالين Valine بإهدار الجزء الأميني من الآصرة :

```
H   H      H  R2
|   |      |  |
N—C—C↓N—C—C—
    |   ‖      |  ‖
    R1  O      H  O
```

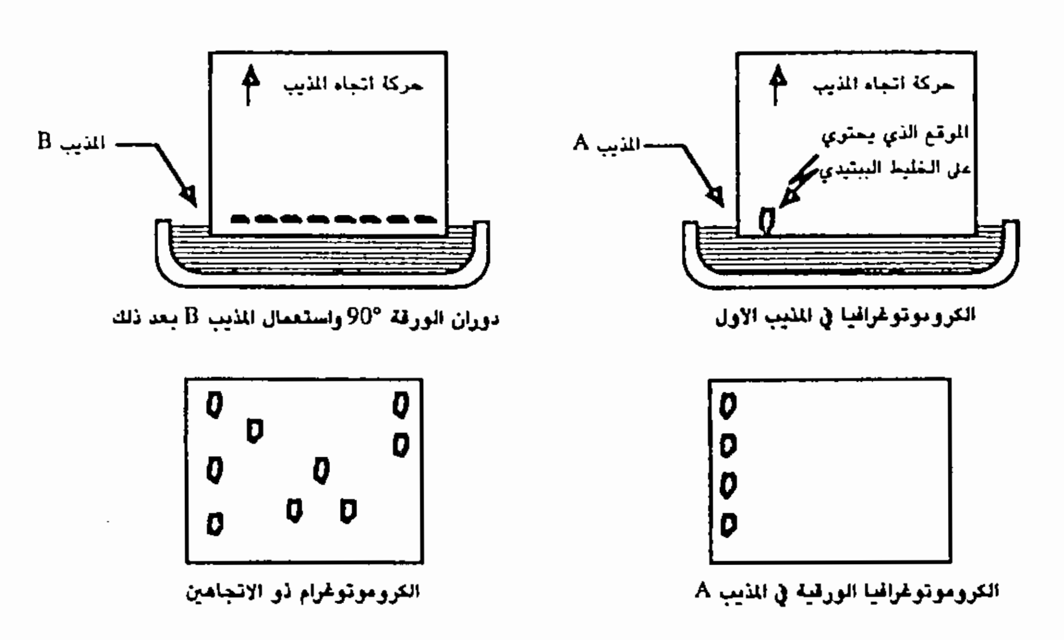
2 ـ فصل وتحليل الببتيدات :

إن عملية فصل خليط من الببتيدات أصعب من فصل خليط من الأحماض الأمينية لان عـدد البـبـتـيدات الاحتمالية أكثر من الاحماض الأمينية في البروتينات، وتستعمل الكرومـوتوغـرافـيـا الورقـيـة في عـمليـة الترحـيل الكهـربائيـة الورقية لهذا الغرض والكرومـوتوغـرافـيـا ذات العمود عند استعمال الطريقة الورقية فيفضل الاعتماد على الطريقـة ذات الاتجـاهين ويفـضل الخليط البـبتيدي بالترحيل الكهربائي واتجاه واحد أولاً يتـبعها الكروموتوغرافيا (أو الهجرة الكهربائية في درجة أس هيدروجيني أخرى)،

(انظر الشكل 6 - 8)، وبعد انتهاء العملية يمكن تشخيص الببتيدات المتحركة باستعمال صبغة النهايدرن (Ninhydrin) :

الشكل (6 - 8)

الكروموتوغرافيا الورقية ذات الاتجاهين



3 ـ قياس البناء الأولي للببتيدات

يشــمل البناء الأولي للببتيدات التسلسل الخطي للأحماض الامينية، ويمكن قياسه بطرق كيميائية متنوعة تختلف عن الطرق المستعملة لقياس البناء الأولي للبروتينات :

1) قـياس عدد وأنواع الاحماض الامينية.

2) قياس تتابع الاحماض الامينية.

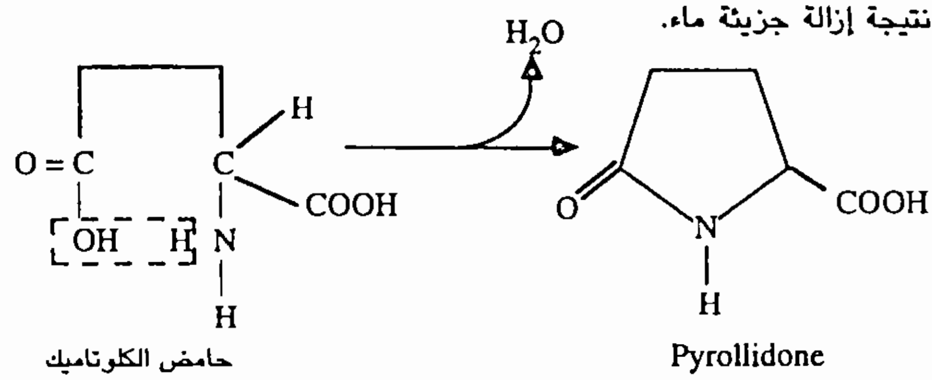
(1) قياس عدد وأنواع الاحماض الامينية :

يمكن إجراء عملية القياس بالطرق التالية :

أ ـ التحلل المائي :

تستعمل إحدى الطرق التالية :

أ ـ التحلل المائي بالحامض : بدرجات حرارة 110 م لمدة 20 - 70 ساعة في حامض الهيدروكلوريك (6 عياري) ويستعمل لهذا الغرض أنابيب مفرغة. ومن مضار هذه الطريقة هي تحطيم كل من التربتوفان وكميات متفاوتة من السيرين والثريونين (Threonine)، كما يصيب الكَلوتامين والاستاراجين إزالة لمجموعته الامينية اضافة إلى ذلك يتحول حامض الكلوتاميك إلى البيروليدون "Pyrollidone" نتيجة إزالة جزيئة ماء.



وأخيرا توجد أحماض امينية أخرى تتحول إلى البايبيريزين ثنائي الكيتو ذي الشكل الحلقي، وذلك بفقدان جزيئة ماء وتفاعل جزيئتين من هذه الأحماض.

2 ـ التحلل المائي بالقاعدة : وتستعمل للتعويض عن حامض التربتوفان حيث لا يتكسر بهذه الطريقة بينما يصيب التكسير الأحماض سيرين، الثريونين (Threpmome) ارجينين والسيستين (Cysteine).

3 ـ التحلل المائي بالإنزيمات : تستعمل الإنزيمات التي تسمى بـ البيتيديزز Pepti-dases مثل سبتيلسن Subtilsin والبرونيز Pronase والتي تقوم بتحطيم الاواصر البيتيدية إلا أن سرعة التفاعل بهذه الطريقة أقل من التحلل المائي بالاحماض، كما أن هناك إنزيمات أسرع مثل تريبسن وكيموتربسين.

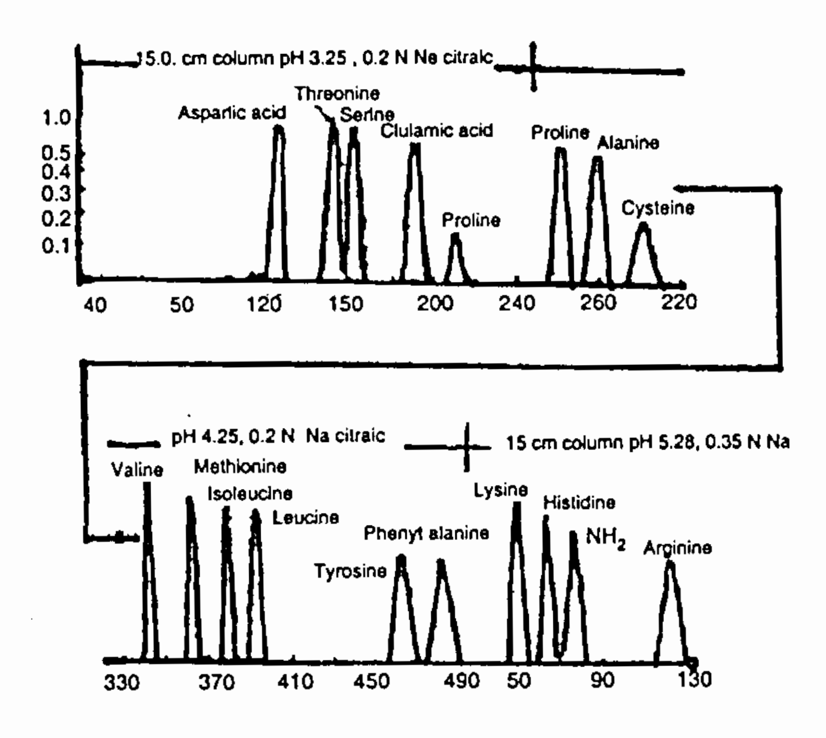
كما يمكن فصل الخليط البيبتيدي باستعمال الكروموتوغرافيا العمودية التي تحتوي الراتنجات ذات التبادل الايوني، ويمكن كذلك استعمال محلل الاحماض

الامـينيـة لنفس الغـرض والتي تعـتـمـد على الصفات الحامضية والقاعدية للأحماض الأمينية الناتجة من التحلل المائي للببتيدات، وحسب ما موضح في الشكل (6 - 9).

الشكل (6 - 9)

تحليل الاحماض الأمينية باستعمال الراتنجات ذات التبادل الأيوني

بجهاز محلل الأحماض الأمينية الأوتوماتيكي



فصل وتشخيص الاحماض الامينية

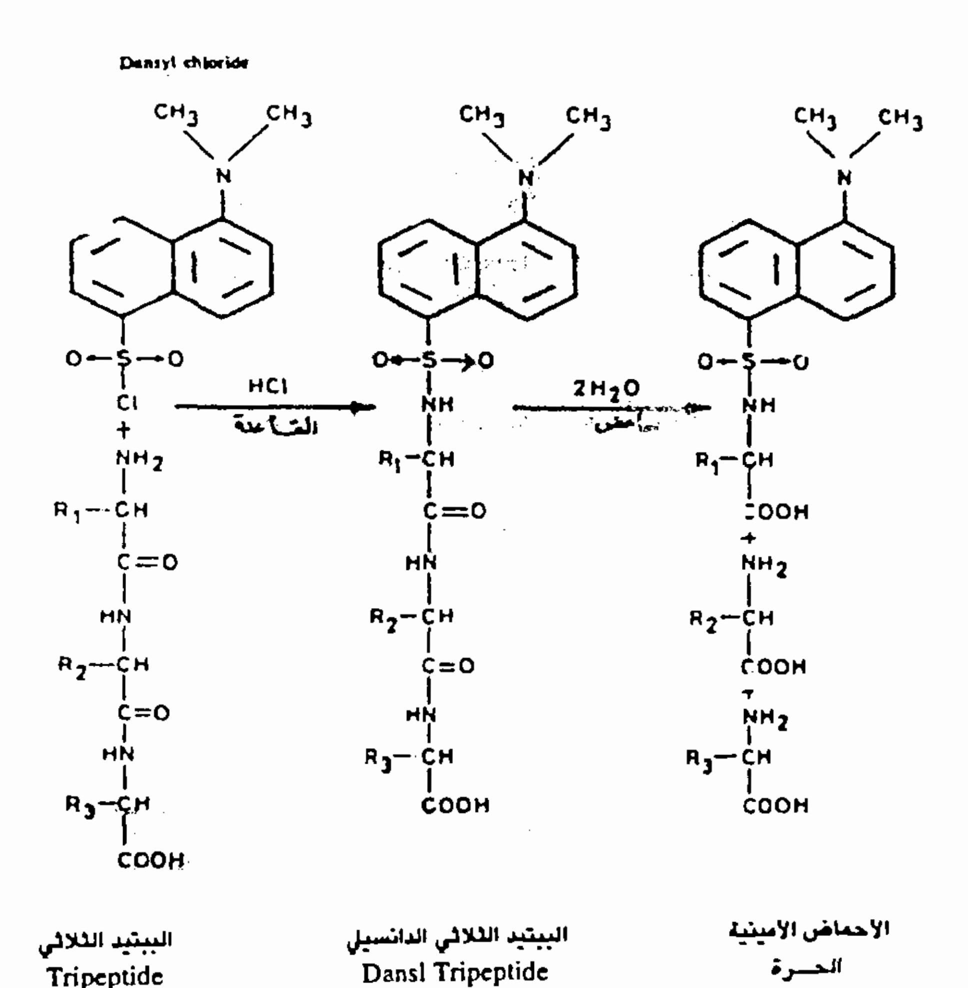
يمكن فصل هذه الاحماض الناتجة من التحلل المائي للببتيدات بطرق مختلفة منها كروموتوغرافيا بأنواعها مختلفة الاعمدة، الورق، الغاز السائل .

قياس تتابع الاحماض الامينية

ويشمل هذا الموضوع الطرق المختلفة لقياس هذا التتابع وتستعمل نفس الطرق المستعملة من قبل سانجر Frederik sanger وغيره لدراسة التتابع للاحماض الامينية في البروتينات، وقد استعمل للغرض هذا الهورمون الانسولين.

(1) تشخيص الاحماض الامينية في النهاية النتروجينية :

أ ـ استعمال مادة Dansyl chloride :ونظرًا لوجود مجموعة الدانسيل Dansyl التالفية (Fluorescent)، لذا فمن المكن إيجاد وقياس كميات قليلة من المشتقات الدانسيلية "Dansyl derivatives" للحامض الاميني في النهاية النتروجينية، وتعتبر هذه الطريقة من أكثر الطرق دقة وحساسية :



ب ـ استعمال تفاعل سانجر : وجد سانجر أن المجموعة الأمينية في الببتيد والتي لا تحمل البروتونات Unprotonated تتفاعل مع داي نتروفينيل بنزين DNFB. لتعطي مركباً مشتقاً أصفر اللون ويطلق عليه (2,4 dinitro fluorobenzenne) (2,4- dinitrophenyl peptide) وعند تعامل الأخير (وبغض النظر عن طوله) مع حامض الهيدروكلوريك (HCl) تنكسر الببتيدات عدا الأصرة التي ترتبط مع ـ 2,4- dinitrophenyl ـ ومجموعة الأمين الألفا للحامض الأميني في النهاية النتروجينية والتي تبقى ثابتة ضد التحلل المائي الحامضي والتي من الممكن تشخيصها بالاعتماد على نوع الحامض الأميني المرتبط .

DNFB

NO_2 — (ring) — NO_2 — F
\+
HN_2 — R_1—CH — C=O — NH — R_2—CH — C=O — NH — R_3—CH — C=O — NH — R_4—CH — COOH

$\xrightarrow{-HF}$

NO_2 — (ring) — NO_2 — NH — R_1—CH — C=O — NH — R_2—CH — C=O — NH — R_3—CH — C=O — NH — R_4—CH — COOH

$\xrightarrow[\text{القاعدة}]{HCl}$

NO_2 — (ring) — NO_2 — NH — R_1—CH — COOH
\+ NH_2 — R_2—CH — COOH
\+ NH_2 — R_3—CH — COOH
\+ NH_2 — R_4—CH — COOH

البتيد الرباعي
Tetrapeptide

2,4 - Dinitrophenyl
Tetrapeptide

الاحماض الامينية
الحـرة

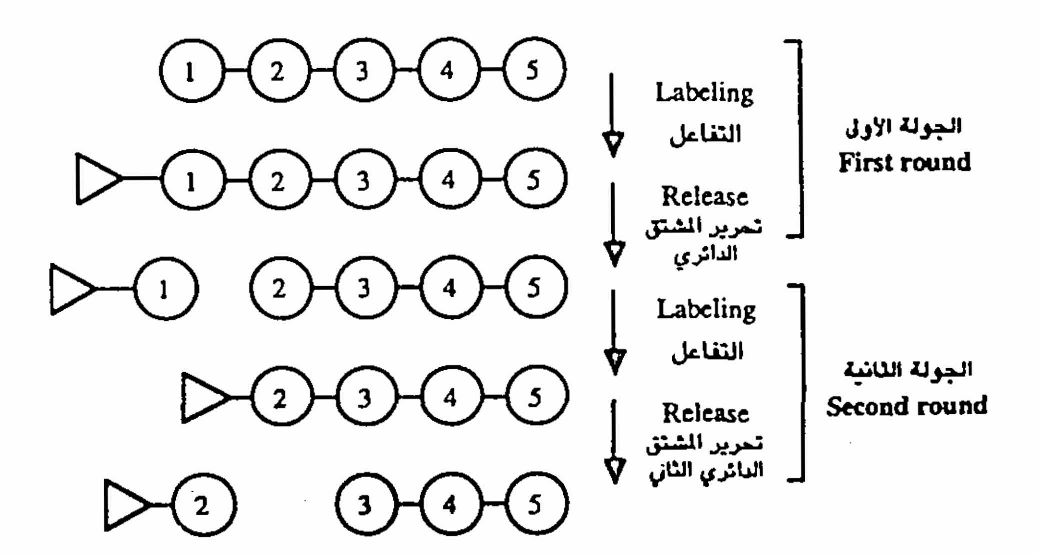
جـ ـ التفاعل مع مادة الفنيل ايسوثايوسيانيت Phenyl iso thio cyanate

(تفاعل ادمان Edman)

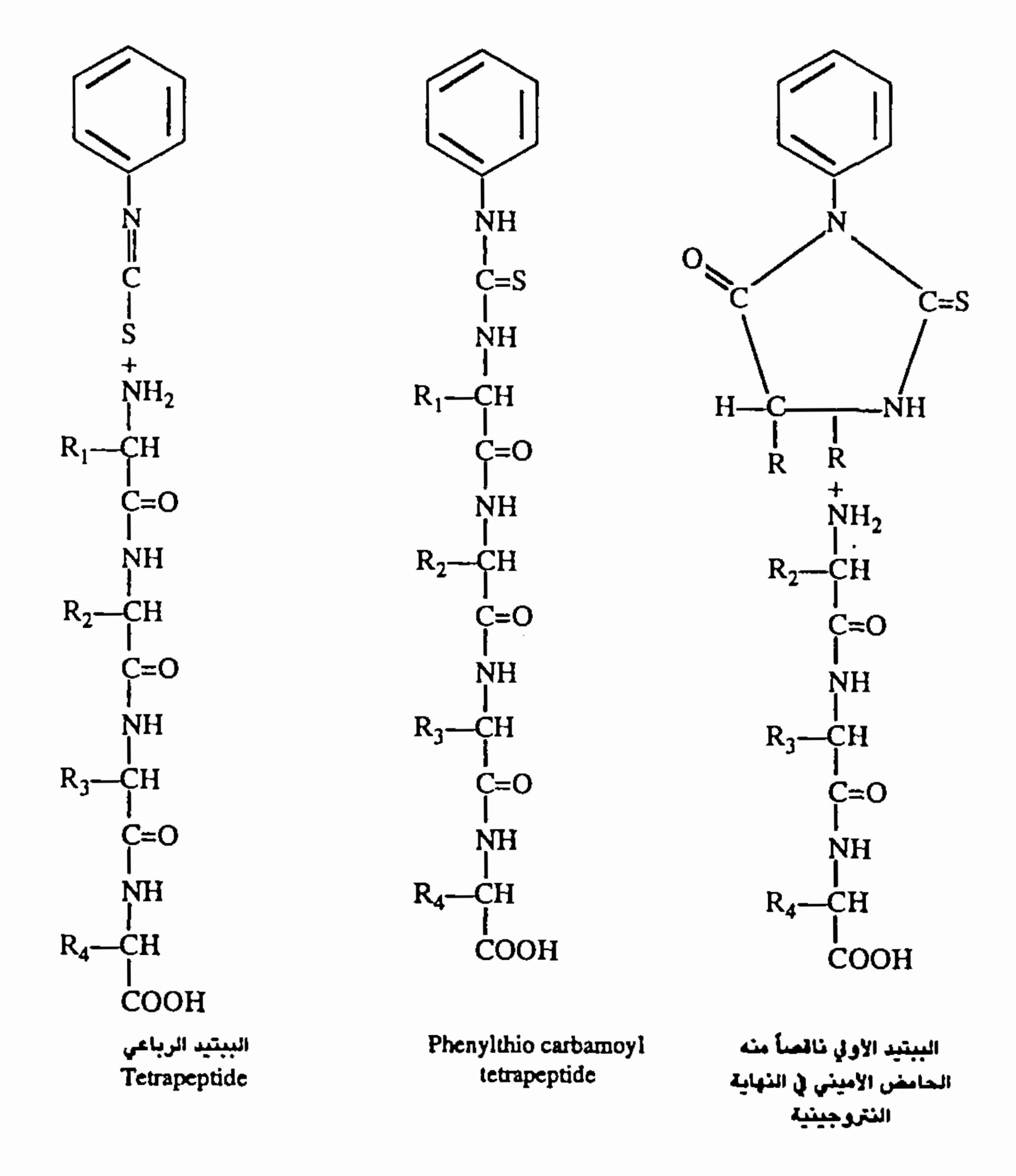
اقترح ادمان طريقة تعتمد على التفاعل بين النهاية الأمينية ومادة الفنيل ايسوثايوسيانيت يتبعها تكسير الآصرة الببتيدية المجاورة فقط، وبالتعاقب يمكن أن تتفاعل النهاية الأمينية الجديدة مع نفس المادة. ويشترط لتفاعل المجموعة الأمينية أن تكون بدون شحنة لكي تكون أولاً مشتق الفنيل ثايوكاربوميل "Phenyl thio carbo- myl" للببتيد، يتبع ذلك تحت ظروف حامضية معتدلة تحرر الببتيد ناقصاً منها الحامض الأميني في النهاية النتروجينية والمشتق الحلقي المسمى بـ الفنيل ثايوهيدانتيون للحامض الأميني الموجود في النهاية النتروجينية، ويمكن تشخيصه ليدلنا على طبيعة الحامض الأميني الموجود في النهاية النتروجينية :

التكسير الببتيدي بطريقة ادمان

EDMAN DEGRADATION



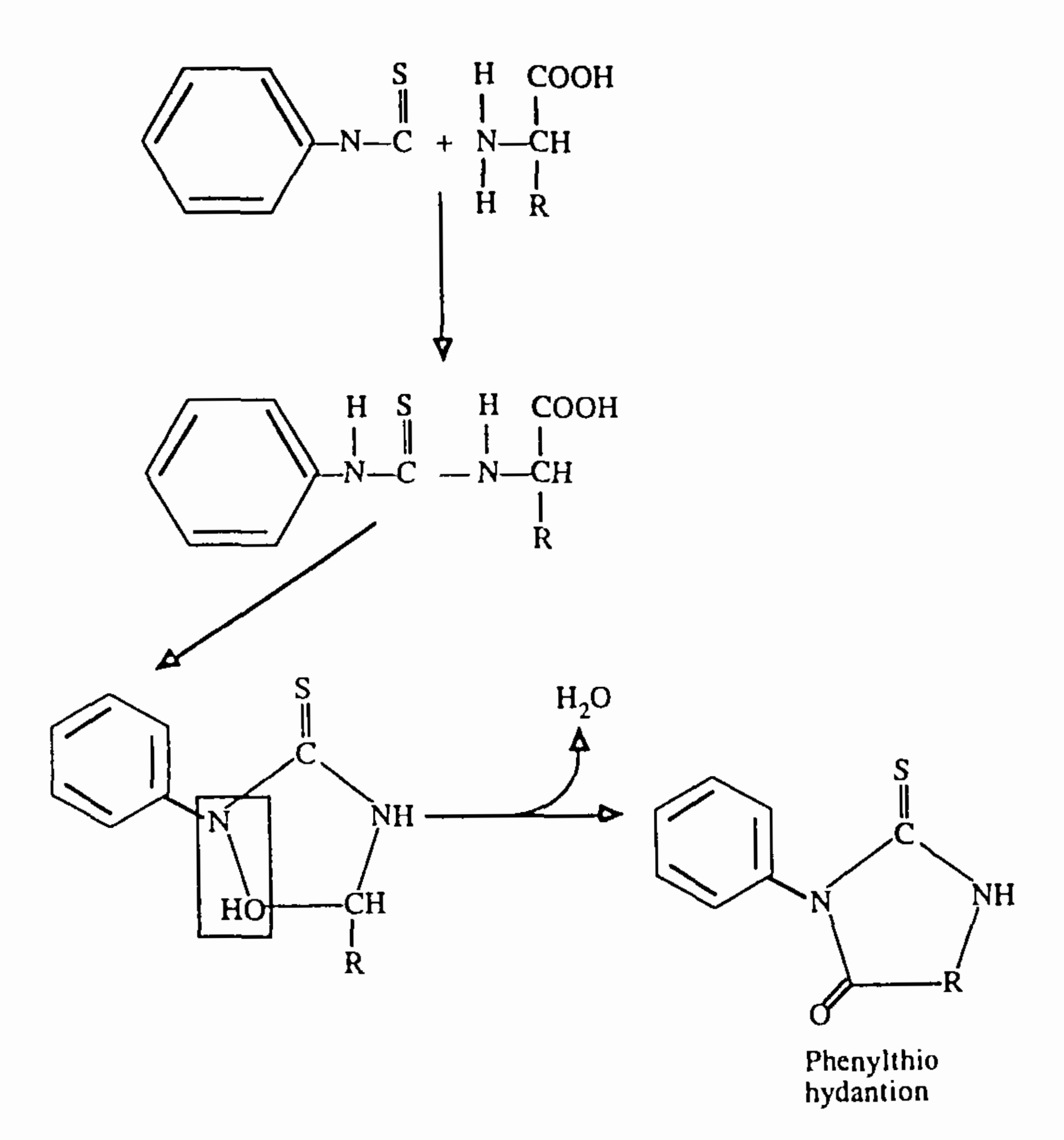
عن Biochemistry by Stryer



الببتيد الرباعي
Tetrapeptide

Phenylthio carbamoyl
tetrapeptide

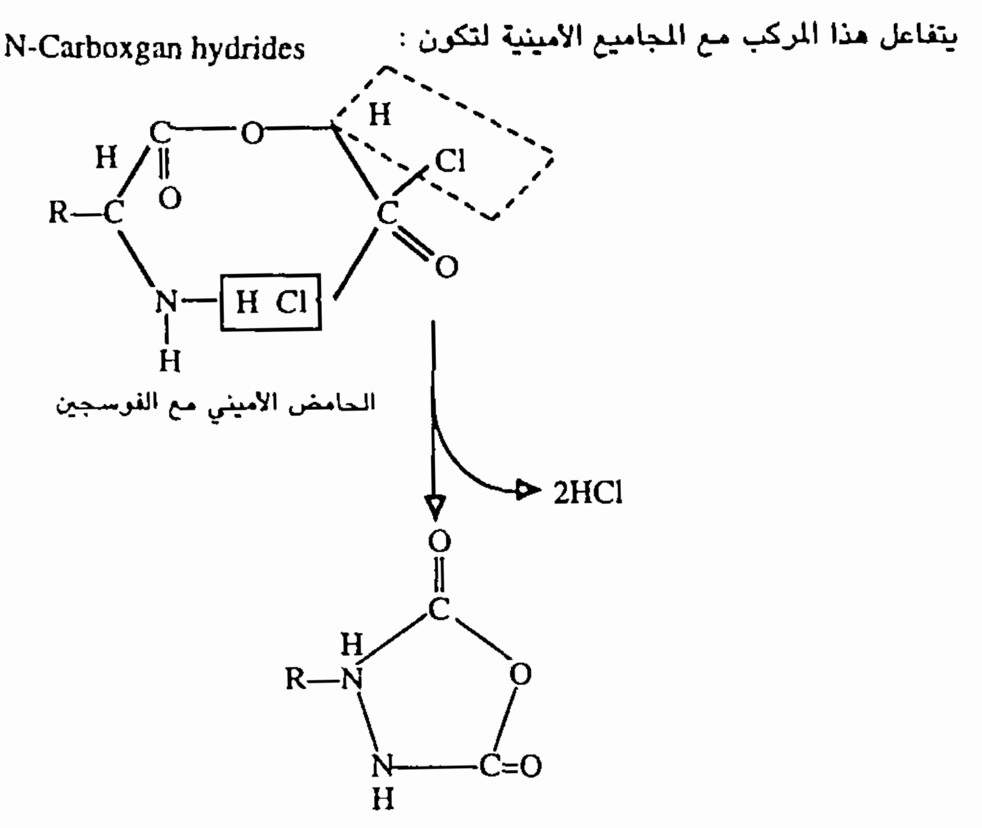
الببتيد الاولي ناقصاً منه
الحامض الاميني في النهاية
النتروجينية



Phenylthio
hydantion

د ـ التفاعل مع Phosgene

يتفاعل هذا المركب مع المجاميع الامينية لتكون : N-Carboxgan hydrides



N-Carboxy anhydride

ذ ـ استعمال مادة السيانوجين برومايد cyanogen bromide

تشطر السلاسل الببتيدية المتعددة وبالاخص على الجانب الكاربوكسيلي للحامض المثيونين مكونة الببتيدات مع الهوموسيرين اللاكتوني في الموقع النهائي الكربوني :

$R-C(=O)-NH-CH(CH_2-CH_2-S-CH_3)-C(=O)-NH-R_1$

Cyanogen bromide

$Br-C\equiv N$

$\rightarrow Br^-$

$R-C(=O)-NH-CH(CH_2-CH_2-S^+(C\equiv N)-CH_3)-C(=O)-NH-R_1$

$\rightarrow S(CN)-CH_3$ Methyl thiocyanate

$R-C(=O)-NH-CH-C(=N^+H-R_1)$ (ring: CH_2-CH_2-O)

H_2O

$R-C(=O)-NH-CH_2-C=O$ (ring: CH_2-CH_2-O)

·otidyl hom. ·ne lactone

$+\ H_3N^+-R_1$

Amino acyl peptide

هـ ـ مع الإنزيمات الامينوببتيديز Aminopeptidases

تحضر هذه الإنزيمات بإزالة الاحماض في النهـايتين النتروجـينيـة والكربوكسيلية بالتعاقب.

و ـ مع الإنزيمات الاندوببتيديز Endopeptidases

تساهم الإنزيمات بفصل الاحماض الامينية كل حسب موقعه :

Gly—Ly—|—Val—Phe—|—Arg—|—Leu—Cys—Tyr—|—Ile—|—Trp—|—Gln

(C فوق الروابط Phe–Arg و Tyr–Ile و Trp–Gln؛ T تحت الروابط Arg–Leu و Ile–Trp)

2 ـ تشخيص مكونات النهاية الكربونية للببتيدات

أ ـ من الممكن تحـويل الحـامض الأميني في النهاية الكربونية للببتيدات بوجود اللثيوم بورهيدرايد Lithium borohydride إلى الكحـول الاميني عند التحلل المائي معتمدا على نوع الحـامض الأمـيني الموجـود في النهاية الكربونية. ومن الممكن تشـخيص هذه المكونات بالطرق الكرومـوتوغرافية، أما المكونات الأولى الناتجة فتوجد بشكل احماض امينية حرة.

$$H_2N-\overset{COOH}{\underset{H}{C}}-H \xrightarrow{LiBH_4} H_2N-\overset{CH_2OH}{\underset{R}{C}}-H$$

ب ـ طريقة الهيدرزنة Hydrazinolysis

$$NH_2-CH(R_1)-C(=O)-HN-CH(R_2)-C(=O)-HN-CH(R_3)-COOH \xrightarrow{NH_2NH_2} NH_2-CH(R_1)-C(=O)-NHNH_2 + NH_2-CH(R_2)-C(=O)-NHNH_2 + NH_2-CH(R_3)-COOH$$

Aminoacyl hydrazide

الحامض الأميني في النهاية الكاربونية

تحلل هذه الطريقة جميع الاواصر الببتيدية عدا الاحماض الامينية في النهاية الكربونية إلى الهايدرازيد ويظهر الحامض الاميني في النهاية الكربونية كحامض أميني حر ويمكن تشخيصه كروموتوغرافياً.

6 - 10 الببتيدات غير البروتينية :

بالإضافة إلى الببتيدات التي تستخلص من التحلل المائي للبروتينات هناك الكثير منها غير مشتقة من البروتينات بل توجد بصورة حرة تختلف عن الببتيدات البروتينية، فمثلا هناك الكلوتاثايون "Glutathione" في خلايا الحيوانات التي تحتوي على حامض الكلوتاميك والذي يرتبط بآصرة ببتيدية غير طبيعية تشمل الكاما كاربوكسيل وليست الالفا، أما الكارنوسين (Carnosine) فتحتوي على الاحماض الامينية من نوع بيتا وتستخرج من العضلات، أما التايروسيدين A فتحتوي على حامض أميني من نوع D وكما هو معروف فالاحماض الامينية من نوع D لا توجد في البروتينات.

وهناك الكثير من المضادات الحيوية Artibioties التي توجد بشكل ببتيدي ومنها:

1 ـ الاميدومايسين Amidomycin.

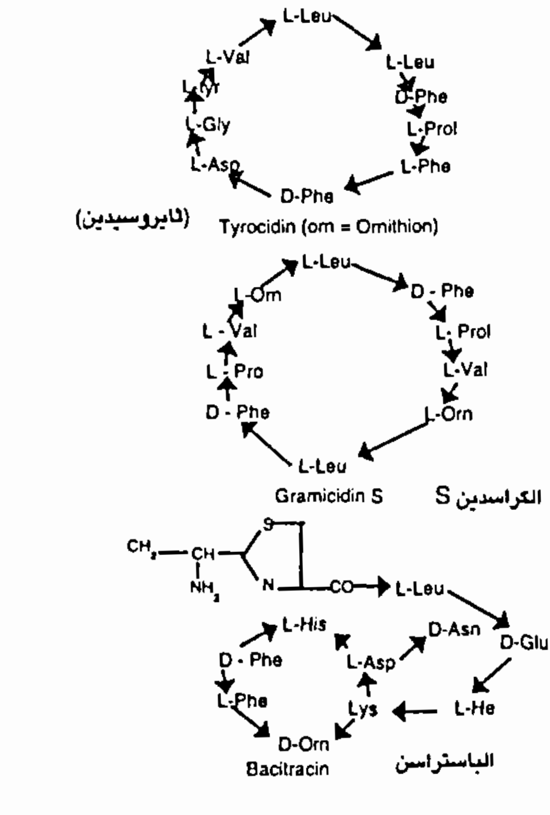
2 ـ الافامايسين Efamycin.

3 ـ فاليومايسين Valiomycin.

4 ـ كراميسيدين Gramicidin.

5 ـ باستراسن Bacitracin.

6 ـ ثايروسيدين Tyrpcodom A .



(تايروسيدين) Tyrocidin (om = Ornithion)

Gramicidin S الكراسدين S

Bacitracin الباستراسن

```
           O    H            O    H
           ‖    |            ‖    |
      CH — C — N — CH — C — N — CH2 — COOH
      |              |
      CH2            CH
      |              |
  H — C — NH2        SH
      |
      COOH
```

Glutathione (γ - glutamyl - cysteinyl- glycine) الكلوتاثايون

Arg- Pro- Pro- Gly- Phe- Ser- Pro- Phe- Arg

Bradykinin البرادي كينن

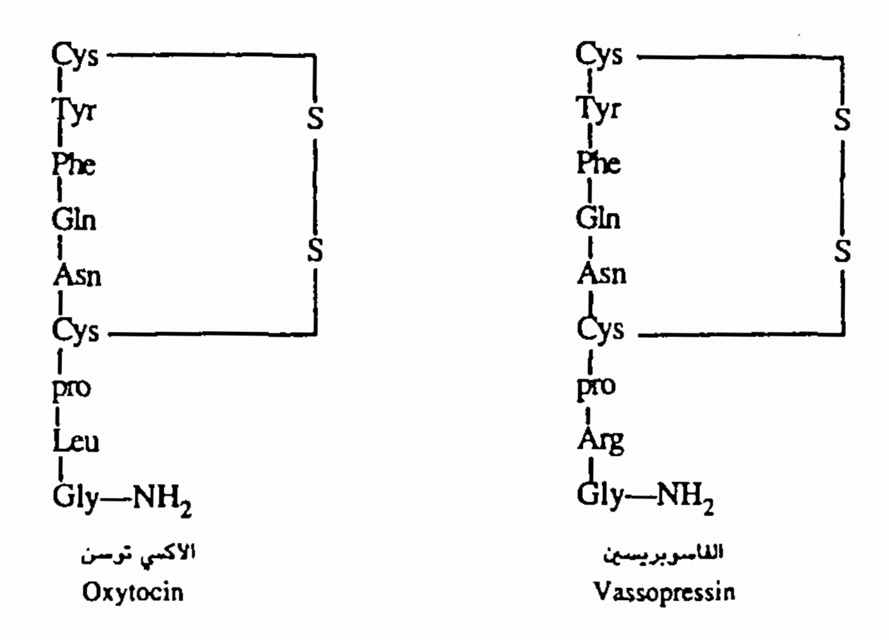
Lys- Arg- Pro- Pro- Gly- Phe- Ser- Pro- Phe- Arg

Kallidin الكاليدين

$$H_2N\,CH_2\,CH_2\,\underset{\underset{O}{\|}}{C}-\overset{\overset{H}{|}}{N}-\overset{\overset{COOH}{|}}{C}H-CH_2-\underbrace{C=CH-N=CH-NH}_{\text{imidazole ring}}$$

Carnosine (β– alanyl histidine)

الكارنوسين



ومن البيتيدات من تقوم بنشاط هرموني مثل عامل تحت المهاد (Hypothalamic) الذي يقوم بتحرير الهرمون الثايروتروبك المدق Tyrotropich في الغدة النخامية والاكستوسن Oxytocin والفاسويريسن Vassopressin

العامل المحرر للثايروتروبين Thyrotropin releasing factor

يتكون هذا العامل بواسطة غدة تحت المهاد Hypothalamus

Proglutamic acid — Histidine — Prolinamide

الجدول (6 - 6)

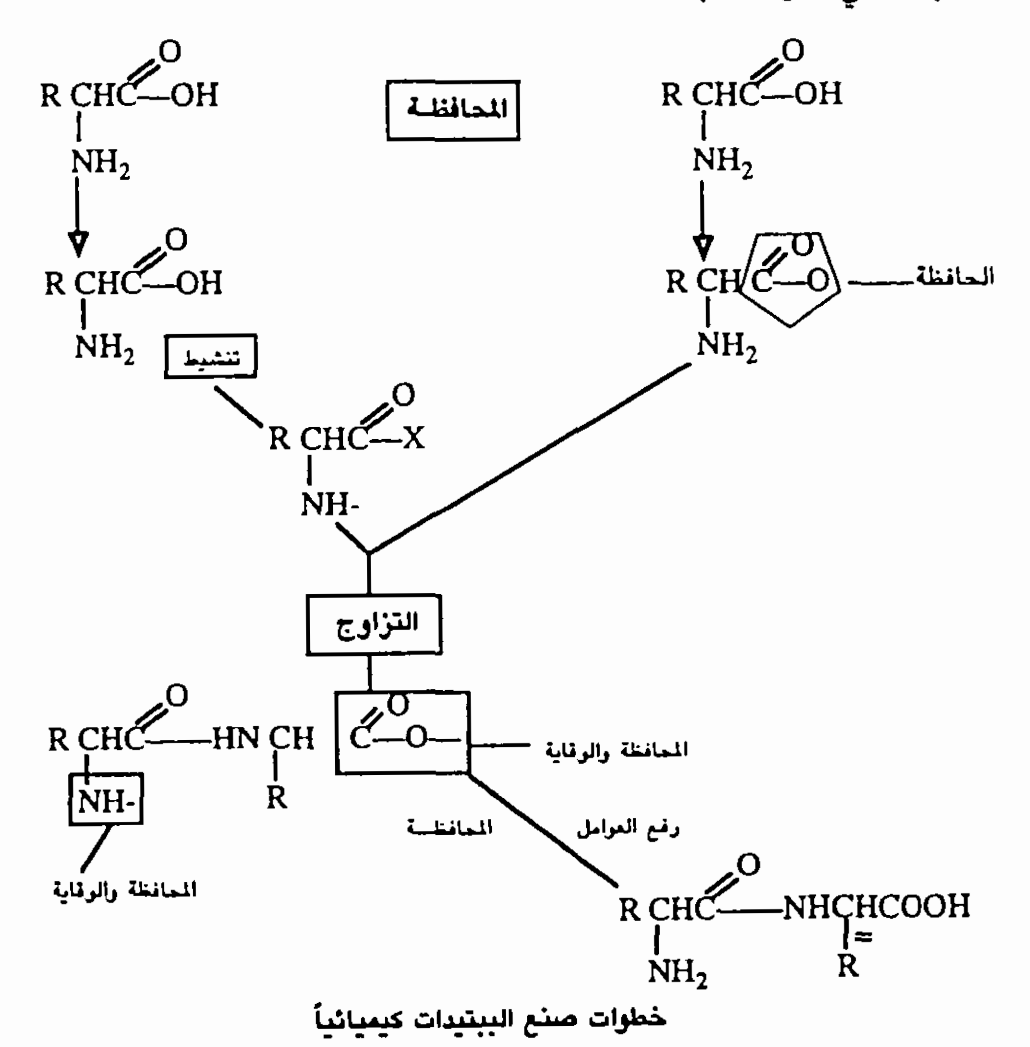
نوع وتركيب الببتيد واهميته الحياتية

البتيـــــــد		عدد جزيئات الحمض الأميني	الأهمية الحياتية
(الكلوتاثايون)	Glutathione	3	عامل مختزل
فازوبريسن	Vassopressin	9	هرمون ميزان الماء
الاكستوسن	Oxytocin	9	ينشط تقلصات الرحم
برادي كينن	Brady Kinin	9	عامل مهبط لضغط الدم
الكرامسيدين	Gramicidkin	10	مضاد حيوي
باستراسن	Bacitracin	12	
الهورمون المنشط للميلانن	Melanocyte Stimulating Hormone (NSH)	18	ينشط من تبدد الصبغات

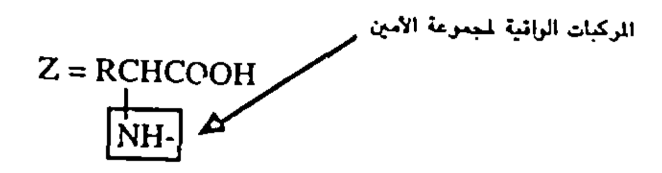
6 - 11 طرق تكوين الببتيدات كيميائياً

تعتمد هذه الطرق على ارتباط مجموعة الكاربوكسيل لأحد الأحماض الأمينية مع مجموعة الأمين للحامض الثاني ونظرا لوجود مجموعة أمين وكربوكسيل لكل حامض، لذا فهناك صعوبة تحديد المجاميع التي تتفاعل، وعليه يجب المحافظة على مجموعة منها حتى لا تدخل في التفاعلات حسب المخطط التالي :

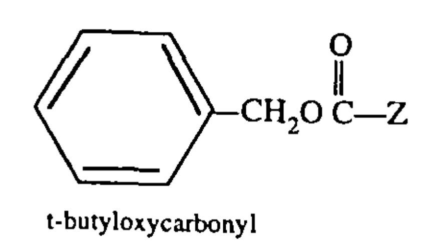
المحافظة على مجموعة الأمين في النهاية النتروجينية وكذلك مجموعة الكاربوكسيل في النهاية الكربونية والمجاميع الأخرى الموجودة مثل الثايول وغيرها باستعمال المركبات التي ذكرت سابقاً :



خطوات صنع الببتيدات كيميائياً



Carbobensylexyl (1)



t-butyloxycarbonyl

(2)

$(CH_3)_3\,CO\,\overset{O}{\overset{\|}{C}}-Z$

Phytolyl (3)

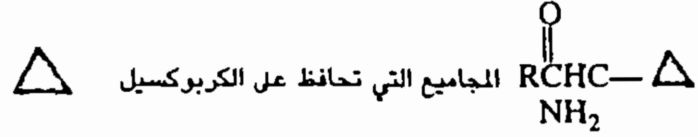
$C_6H_4(\overset{O}{\overset{\|}{C}}-Z)_2$

Tosyl (4)

$CH_3-C_6H_4-SO_2-Z$

Trifluoroacetyl (5)

$F_3C\,\overset{O}{\overset{\|}{C}}-Z$



الاسترات

المثيل $CH_3O—$

الاثيل $CH_3CH_2O—$

البنزيل

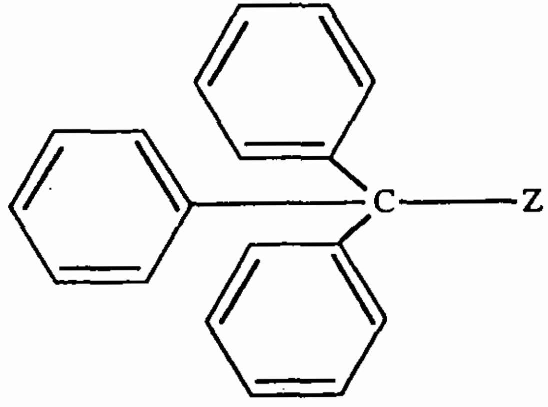
$—C_6H_4—CH_2—O—$

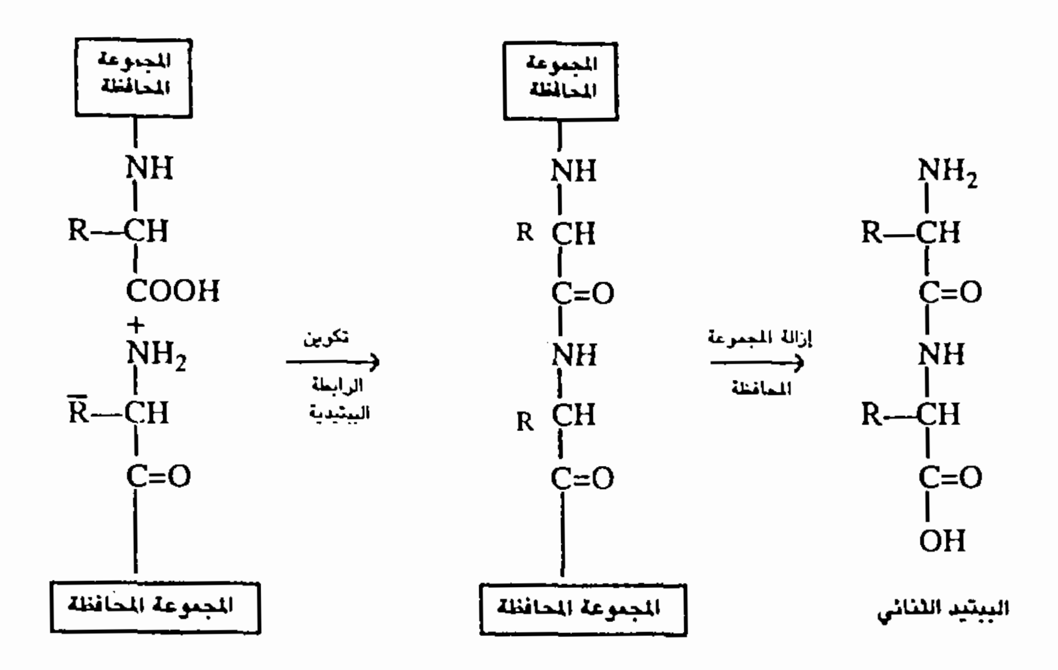
النتروبنزيل

$O_3N—C_6H_4—CH_2—O—$

الترت بيوتيل

$$H_3C—\underset{CH_3}{\overset{CH_3}{C}}—$$





ويتحول هذا المركب إلى الحامض الكلوريدي باستعمال :

$$\begin{array}{l} CH_2.COCl \\ | \\ NH.CO.O.CH_2C_6H_5 \end{array}$$

ويتحد الأخير مع الحامض الأميني.

$$\begin{array}{l} CH_2\ CO\ \boxed{Cl} \quad + \quad CH_2.COOH \\ | \qquad\qquad\qquad\qquad\quad | \\ NH.CO.O.CH_2.C_6H_5 \quad \boxed{H}—N—H \\ \downarrow \\ CH_2.CO.NH.CH_2.COOH \\ | \qquad\qquad\qquad\qquad (A) \\ NH.CO.O.CH_2C_6H_5 \end{array}$$

ويمكن إزالة مجموعة Carbobenzoxy وذلك باستعمال الهيدروجين بوجود Palladium black يمكن فصل الببتيد الحر وذلك بإزالة التولوين و CO_2

$$\underset{\underset{H\,:\qquad\qquad :\,H}{NH.CO.O.CH_2C_6H_5}}{CH_2.CO.NH.CH_2.COOH} \longrightarrow \underset{NH_2}{CH_2.CO.NH.CH_2\,COOH}$$

Glycylglycine

$+ CO_2 + C_6H_5\,CH_3$

Toluene

وإذا كـان الغرض هو تكوين الببتيد الثلاثي فيضاف إلى (A) الهالوجين ويضاف إليه حمض أميني آخر.

$$\underset{NH.CO.O.CH_2.C_6H_5}{CH_2.CO.NH.CH_2.COOH} \xrightarrow{PCl_5} \underset{NH.CO.O.CH_2C_6H_5}{CH_2.CO.NH.CH_2\,CO\boxed{Cl}}$$

$+$

$$\underset{NH-\boxed{H}}{CH_3.C.COOH}$$

$$CO_2 + C_6H_5CH_3 \xleftarrow[(Pt)]{H_2} \underset{NH.CO.O.CH_2.C_6H_5}{CH_2.CO.NH.CH_2\,CO.NH.CH.(CH_3)}$$

$+$

$$\underset{NH_2}{CH_2.CO.NH.CH_2\,CO.NH.CH.(CH_3).COOH}$$

Glycylglycine glycine

المصادر

(1) Lehninger Principles of Biochemistry worth Publishers, Inc, 1982

(2) Text Book of Biochemistry by west and Todd.

(3) Biochemical culculations 2 nd edition Irwin H. Segal 1976.

(4) Text Book of Biochemistry with clinical correlations Thomas M. Devlin 1986.

(5) Physical Biochemistry, applications to Biochemistry and Molecular Biology. David Freifelder

(6) Physical Biochemistry, Daved Freifelder W.H. Freeman and Co.

(7) الكيمـيـاء الحياتية / تاليف الدكتور رياض رشيد سليمان/ الدكتور سامي عبد المهدي المظفر 1985.

(8) Biochemistry, Geoffrey zubay, macdillan Publishing Company, Secend edition, 1988.

الفصل السابع

البروتينــــات

7 - 1 الأدوار الوظيفية للبروتينات

تقـوم البروتينات بوظائف اسـاسـيـة مـتنوعـة في الكائنات الشدية، وتقسم هذه الوظائف إلى مجموعتين :

أ ـ الوظائف الديناميكية

ب ـ الوظائف التركيبية

وتتـضـمن الوظائف الديناميـكيـة للبروتينات : النقل، السيطرة الحياتية، التقلص والتـحـفـيـز للتفاعلات الحياتية، أو الوظائف التركيبية فتتمثل بالقالب البنائي للعظام والأنسـجـة الرابطة. من المجـامـيع البروتينية المهمة للبروتينات الديناميكية الإنزيمات، وكـذلك الهيـمـوغلوبين والمايوكلوين اللذان يقـومـان بوظيـفة نقل الأوكسجين في الدم والفـضـلات بالتـعـاقب، كما يقوم الترانسفيرين بنقل الحديد في الدم وهناك بروتينات اخـرى تقـوم بنقل الهورمـونات والأدوية والمركـبـات السـمـية، إضافة إلى ذلك تقوم البروتينات بوظائف حماية مـثل الكلوبيلينات المناعـيـة، والانترفيرون ضـد الالتـهـاب البكتيري والفيروسي، كما يقـوم البروتين المسـمى بالفـابيون والذي يتكون عند الحاجة إليه بوقف النزيف الدموي عند حصول جرح النظام الوعائي.

هناك العـديد من الهرمونات ذات طبيعة بروتينية مثل الانسولين، والثايروترين، والسـوماتوتروين (هورمون النمو)، الهورمون اللوتيني والهورمون المنشط (Follicle stimulatiog harmone) كما أن هناك هورمـونات عـديده تتـصـف بكونها نمـوذجـاً بـروتـيـنـيـاً ذا وزن جـزيئي واطـىء، أقـل من 5000 وتسـمى بالبـبـتيدات ومنها، الادرينوكورتيكو تروين والهورمون المضاد للتبول والكاليستميوتن.

كما أن لبـعض البروتينات صـفـات خـاصـة تجـعلها تقوم بدور مهم في التقلص العـضلي ومنهـا المايوسن والاكـتن، وهناك بروتينات تقـوم بوظائف السيطرة وتنظيم الجين ووظائفـه من ناحـيـتي الاسـتنسـاخ والترجمة، ومنهـا البروتينات الهسـتونية المرتبطة بالـ د. ن. أ.

1 ـ التحفيز Catalysis

ويتضمن التفاعلات الكيميائية التي تحفز بواسطة الإنزيمات التي هي أكثر البروتينات خصوصية علما بأن جميع التفاعلات الكيميائية للجزيئات الحياتية العضوية في الخلية تحفز بواسطة الإنزيمات. ويوجد في الوقت الحاضر أكثر من 2000 إنزيم مختلف، كل واحد منها يستطيع أن يحفز نوعاً متميزاً من التفاعل الكيميائي، وقد تم اكتشافها في مختلف أشكال الحياة.

2 ـ البروتينات الناقلة Transport proteins

تقوم البروتينات الناقلة في بلازما الدم بالارتباط وحمل الجزئيات أو الأيونات من عضو إلى آخر، كما يتم نقل المركبات الوسطية بين الأعضاء والأنسجة.

أ ـ الهيموغلوبين ينقل الغازات : يرتبط الهيموغلوبين في خلايا الدم الحمراء بالأوكسجين عندما يمر الدم خلال الرئتين ويحمله إلى الأنسجة المحيطة، حيث هناك يتحور الأوكسجين ليقوم بأكسده المواد الغذائية لتوليد الطاقة.

ب ـ البروتينات الدهنية Lipo proteins : تحمل هذه البروتينات الدهنيات من الكبد إلى أعضاء أخرى مثل بيتا ـ 1 ـ ليبوبروتين β - Lipo protein .

جـ ـ بروتينات أخرى :

1 ـ هناك بروتينات موجودة في الأغشية الخلوية تتكيف لكي ترتبط وتنقل الكلوكوز، وكذلك الأحماض الأمينية، والمواد الغذائية الأخرى خلال الغشاء إلى داخل الخليلة.

2 ـ كما أن هناك بروتينات كالسايتوكرومات التي تنقل الألكترونات والإنزيم البيرميز (permease) الذي ينقل المركبات الوسطية، إضافة إلى البومين مصل الدم والمايوكلوبين.

3 ـ البروتينات الخازنة Storage proteins

تعتبر البروتينات المسماة بالغذائية من مكونات البذور للعديد من النباتات حيث تخزن هناك ويستفاد منها من أجل نمو الجنين النباتي، كما أن البومين البيض

(Ovalbumin) بروتين رئيس لبياض البيض، والكازين الموجود في الحليب هي أمثلة أخرى على البروتينات الغذائية، ويقوم البروتين المسمى بالفيرتين "Ferritin" الموجود في الأنسجة الحيوانية بخزن الحديد.

4 ـ البروتينات المتحركة والمتقلصة Contractile or Motile Proteins

لبعض البروتينات القدرة لكي تتقلص وتتغير شكلها حيث أن كل من الاكتن والمايوسن (Actin and Myosin) عبارة عن بروتينات خيطية تلعب دوراً في نظام التقلص "Contractile system" للعضلات الهيكلية، وكذلك في الخلايا غير العضلية، إضافة إلى ذلك هناك بروتينات أخرى ضمن هذا الجزء مثل التيوبلين "Tubulin" والدينين "Dynein"

5 ـ البروتينات التركيبية Structural Proteins

هناك العديد من البروتينات التركيبية تخدم كخيط مساند (Supporting fila-ment) أو سطوح لكي تعطي التراكيب البنائية الحياتية القوه والحماية. ومنها الكولاجين، وهو أحد أنواع البروتينات الليفية الذي يعتبر المكون الرئيسي للوتر والغضروف واللذان يعطيان قوة كبيرة جداً، كما يعتقد بأن الجلد عبارة عن بروتين نقي ويحتوي الرباط على الالاستن (elastin) البروتين الذي يستطيع أن يتمدد باتجاهين. يحتوى الشعر والأظافر والريش على نسبة كبيرة من الكيراتين وهو بروتين غير ذائب، اما المكون الرئيسي لالياف الحرير وشبكة العنكبوت فيتمثل بالبروتين الفايبروين "fibroin" ، إضافة إلى ذلك هناك بروتينات تقوم بوظائف تركيبية ومنها الكلايكانات البروتينية "Proteoglycans" .

6 ـ البروتينات الدافعة وآليات الدفاع عن الجسم :

يدافع العديد من البروتينات عن الكائنات الحسية ضد الغزو الذي يتم من قبل أنواع أخرى، كما تحمي الكائن الحي من الجروح عن طريق البروتينات الكلوبيلينية المناعية (immunoglobulin) أو الأجسام المضادة ـ "antibodies" والتي هي عبارة عن بروتينات متخصصة تبني حياتها بواسطة اللمفوسايت. كما أن هناك الفيبرنوجين والثرومبن والتي هي بروتينات جلطة الدم التي تمنع فقدان الدم عند الجرح. كما

تظهـر سموم الحية وذيفان البكتيريا والبروتينات البنائية السمية مثل الريسن "ricin" كمدافع من الناحية الوظيفية.

7 ـ البروتينات المنتلمة

تساهم بعض البروتينات بتنظيم النشـاط الوظيـفي والخلوي ومنها الهورمونات كـالانسولين الذي ينظم العمليات الحياتية للسكر والذي يسبب نقصانه مرض السكر، وكـذلك هورمـون النمو من الغده النخامية وهرمونان جنب الغده الدرقية التي تنظم نقل الفـوسـفـات والكالسـيوم، إضـافـة إلى ذلك تقوم البروتينات كمستلمات الغشاء الخلوي "Cell membrane receptors" .

8 ـ البروتينات الاخرى

أ ـ نقل الاسـتـجـابة العـصـبـيـة عن طريق بعض البروتينات التي تتصرف كناقلات واجهزة للإثارة.

ب ـ بعض البروتينات المسماة بالمونيلن Monellin الموجـودة في النباتات الأفريقية لها طعم حلو والتي تتصف بكونها غير دهنية وليست سمية.

التحليلات الكيمياوية الحياتية للبروتينات :

تتركـز التحليلات الكيميائية الحياتية للبروتينات في المختبرات الكيميائية السريرية على بعض أنواع البروتينات الذائبة في :

أ ـ مصل الدم، ب ـ البول، ج ـ سائل النخاع الشوكي.

بروتينات البـلازما : تتراوح كـمـيـة البروتين الكليـة في بلازمـا دم الأشـخاص الطبيعية 15.6 - 20 مـلي مكافىء/ لتر تقـريبـاً (6 - 8 غم/100سم3)، وتنقسم بروتينات البلازما إلى جزئين رئيسيين وجزء ثالث اقل تركيزاً .

أ ـ الزلال "الالبومين" (4 - 5.7 غم/100سم3) في الحالة الطبيعية.

ب ـ الكلوبيلين (1.5 - 3 غم / 100 سم3) في الحالة الطبيعية.

ج ـ الفابيرنوجين (0.1 - 0.5 غم/سم3) في الحالة الطبيعية.

بروتينات مصل الدم : يمكن تقسيم هذه البروتينات إلى :

أ ـ البروتين الكلي : 1 ـ الالبومين .

2 ـ الكلوبيلين :

(أ) الفا 1 كَلوبيلين

(ب) الفا 2 كلوبيلين

(ج) بيتا كَلوبيلين

(د) كاما كَلوبيلين ($I_gA, I_g M, I_gG, I_gD, I_gE$)

الأهمية السريرية للبروتينات ـ الحالات التي ترتفع فيها البروتينات :

1 ـ الانكاز (الجفاف) .

2 ـ الأمراض السرطانية (الورم النخاعي المضاعف).

الحالات التي ينخفض فيها مستوى البروتينات :

1 ـ امراض الكلية ـ "التهاب الكلية المتزامن" .

2 ـ حالات الحروق .

3 ـ حالات النزف الدموي الشديد.

4 ـ في بعض الأمراض المعوية التي يتعطل فيها الامتصاص :

الالبومين :

أ ـ القيمة الطبيعية (3.5 - 5.0 غم/ 100 سم3) من مصل الدم.

ب ـ ينخفض في 1 ـ مرض تليف الكبد ، 2 ـ التهاب الكلية المتزامن.

الفا 1 كلوبيلين :

أ ـ القيمة الطبيعية (17% - 33%) .

ب ـ يزداد في التفاعل المحدد.

7 - 2 تقسيم البروتينات

يمكن تقسيم البروتينات اعتماداً على قابلية الذوبان والتخثر والترسيب وشكلها العام ونواتج التحلل المائي إلى :

أ ـ البروتينات البسيطة Simple proteins

ب ـ البروتينات المرتبطة Conjugated proteins

ج ـ البروتينات المشتقة Derived proteins

البروتينات البسيطة :

تتكون نتيجة التحلل المائي أحماضاً أمينية من نوع ألفا وتقسم إلى :

1 ـ البروتينات الليفية Fibrous proteins

تظهر البروتينات بشكل ألياف لا تذوب في الماء والأحماض والقواعد والكحولات ولها وزن جزيئي مرتفع تعمل بشكل دعامة أو هيكل للجسم ولها قابلية مطاطية، ومن الأمثلة عليها الكولاجين "Collagens" والالاستين "elastins" الكيراتين (بروتين الشعر والصوف) إضافة إلى ذلك يعتبر البروتين الفايبرن "Fibrin" الذي يتكون عند تجلط الدم أحد البروتينات الليفية.

الكولاجين : يوجد الكولاجين في الأنسجة الضامة والرابطة في العظام والجلود والأوتار العضلية ويعتبر رئيسياً في الأنسجة الرابطة والجلد والعظام ويتحول إلى مادة جلاتينية سهلة الهضم عند غليانه في الماء والحامض المخفف أو القاعدة. والكولاجين خالي من التايروسين ويحتوي على نسبة ضئيلة من حامض السستيئن والسستياين ولايحتوي على التربتوفانات بل على نسبة كبيرة من البرولين (25%) و (25%) من الكلايسين أما الهيدروكي برولين فنسبته مرتفعة.



(الكولاجين)

ويتم تسلسل الأحماض الأمينية وفق ترتيب خاص يكون فيه الحامض الأميني الكلايسين موجود في كل موقع ثالث من هذه الأحماض، كما إن الحلزون الثلاثي (Triple helix) في للكولامن مترابطة بواسطة الأواصر الهيدروجينية بين البرولين والهيدروكسي برولين في سلاسل منفصلة.

والكبراتين الفا يعطي بالتحليل المائي الأحماض الأمينية الهستدين Lysine (الارجنين) Arginine بنسب 1 : 4 : 12 ، بينما الكبراتين بيتا لا تعطي هذه النسبة.

2 ـ البروتينات المشتقة

هي البروتينات التي تتكون نتيجة تاثير بعض العوامل الطبيعية أو الكيميائية على البروتينات وتغير من تركيبها الطبيعي ولكنها تحتفظ بخواصها العامة المميزة، ومن الأمثلة على هذا النوع زلال البيض المترسب بتأثير الحرارة. ويطلق على البروتينات المتحللة بالإنزيمات مثل بروتين ميتا "Metaprot"، وبروتيوز "Proteose"، والببتون "Pepton"، بالبروتينات المشتقة أيضاً.

- **بروتينات الميتا Metaproteins** : عديمة الذوبان في الماء والأحماض المعدنية المركزة أو محاليل الأملاح المعادلة، ولكنها تذوب في الأحماض المعدنية أو القلويات المخففة.
- **البيتونات Peptones** : تذوب هذه المركبات في الماء ولا تتكتل في الحرارة ولا تترسب في الأملاح بل في حامض التانك وخلات الرصاص .
- **البروتيوزات Proteoses** : وهو النوع الذي يذوب في الماء ولا يتجلط بالحرارة ويترسب بالتشبع النصفي بكبريتات الأمونيوم وحامض النتريك المركز يسمى بـ (البروتيوز الثانوية) Secondary proteoses أما الأولية Puimary proteoses فهي تذوب في الماء، أيضاً ولا تتجلط بالحرارة وتترسب بالتشبع الكامل لكبريتات الأمونيوم.

3 ـ البروتينات المرتبطة Conjugated Proteins

ويمكن تسميتها المركبة أو المعشقة بارتباطها مع المركبات غير البروتينية، وقد تم

تسميتها استناداً إلى نوع المركبات غير البروتينية وحسب المجاميع التالية :

أ ـ البروتينات النووية Nucleo Proteins

وتعتبر من أهم المركبات التي تدخل في تركيب النواة الحيوانية والنباتية والأحياء الأخرى وتتكون من اتحاد بروتين بسيط مع حامض نووي، البروتين البسيط لهذه المجموعة هو (الهستون، البروتامين).

ب ـ البروتينات الملونة Chromoproteins

ترتبط البروتينات البسيطة مع مركبات ملونة تحتوي على عنصر أحد المعادن الثقيلة مثل البورفورين Prophrin، ويمكن تقسيم البروتينات هذه استناداً إلى ما تحتويه من المعادن. وترتبط المجاميع المرتبطة للبروتينات الملونة مثل مجاميع الهيم، الهيموغلوبين، والسايتوكرومات إلى الجزء الببتيدي المتعدد .

(1) البروتينات التي تحتوي على الحديد مثل هيموغلوبين الدم ولونه أحمر، ويتكون من بروتين بسيط (الهستون) يرتبط مع مادة حمراء (الهيم)، وهناك الكلوروفيل الذي يحتوي على المغنسيوم والسيرولابلارمن الذي يحتوي على عنصر النحاس وهو ذو لون أزرق، وتقوم هذه البروتينات بنفس عمل الهيموغلوبين من حيث التنفس في دم الزواحف. وهناك امثلة أخرى مثل الفيريتين Ferritin والسايتوكروم Cytochrome ... الخ.

(2) بروتينات لا تحتوي على المعادن، ومن أمثلتها البارزة هي البروتينات التي تحتوي على صبغة الميلاتين الموجودة في الشعر، وكذلك البروتينات التي تساهم في عمل الشبكية والمسماة بالأرجوان البصري.

ج ـ البروتينات الفوسفاتية Phospho proteins

ترتبط البروتينات البسيطة مع حامض الفوسفوريك بشكل أستر عن طريق الثرونين (Threonin) والسيرين Serine، ومن الامثلة على هذه المجموعة البروتينية الكازين "Casein" الموجودة في الحليب والفايتلين "Vitellin" في صفار البيض. ومن صفاتها :

(1) حامضية.

(2) مصدر للجسم بالنسبة للفوسفور.

(3) لا تذوب في الماء أو محاليل الأملاح أو الأحماض المخففة، وتترسب بواسطة التشبع الكامل بكبريتات المغنيسيوم.

د ـ البروتينات الكربوهيدراتية Glycoproteins (glykys)

وتعني الحلو (sweet) وهي مشتقة من الكلمة الإغريقية. وهي بروتينات حيوانية مرتبطة مع السكريات المتعددة مثل الهيبارين Heparin الذي يوجد في دم الثدييات والموسن Mucin الذي يتكون جزئه السكري من وحدات سكرات أمينية مع وحدات سكرات مختلفة مثل حمض اليورونك Uroninc، كما يوجد في بعض الأحيان كل الكلوكوز Glucose المانوز Mannose ، والكلوكوزامين Glucosamine، تعطي هذه البروتينات كشفي بايوريت Biuret ، ومولش Molicu ، الأول للبروتينات والثاني للمواد الكربوهيدراتية.

ومن أنواعها :

أ ـ الميوسن Mucin الموجود في اللعاب وفي الجسم الزجاجي للعين "Viteous humor" ويفرز من قبل الغدد اللعابية والمخاطية في القناة الهضمية، ويذوب في الماء وفي محاليل القلويات المختلفة.

ب ـ الميكويدات Mucoids أقل لزوجة من الميوسن Mucin، وتتركز في الغضاريف والاربطة العضلية Tendons والعظام والانسجة الهاضمة، وتقوم بتدعيم الانسجة وحمايتها تذوب في الماء والأحماض المختلفة والقلويات.

ج ـ البروتينات المهمة الموجودة في بلازما الدم وعدد كبير من الإنزيمات والهورمونات.

هـ ـ البروتينات الدهنية : وتوجد هذه البروتينات في أنسجة الحيوانات وفي بلازما الدم وأغلبها مكون لجدار الخلايا، وكذلك في صفار البيض مثل الفايتلين الدهني Lipo Vitelline، وتتكون نتيجة اتحاد البروتينات مع الدهون. ويمكن تقسيمها إلى أنواع متعددة اعتماداً على ما تحتويه من مادة دهنية.

جدول (7 - 1)

انواع البروتينات المرتبطة مع اجزاء غير بروتينية

البروتين	الجزء اللابروتيني	البروتين
البروتين الفوسفاتى Phosoho protein	المجموعة الفوسفوريلية	كازين في الحليب
البروتين المخاطي Muco, Glyco protein	الكربوهيدرات	كاما - كلوبين / الدم
البروتينات المعدنية Metalloproteins	المعادن	الفيرتين - الحديد
البروتينات الدهنية Lipoproteins	اللسيثين، الكيفالين	
البروتينات النووية Nucleoproteins	الاحماض الدهنية، الاحماض النووية	
البروتينات الفلافينية Flavoproteins	النكليوتايدات الفلافينية	السكسينت ديهايدده - جينيز
البروتينات الهيمية Hemoproteins	الهيم (اليورفيرن الحديد)	الهيموغلوبين

ويمكن تقسيم البروتينات استناداً إلى قيمتها الحيوية إلى :

أ - بروتينات ذات قيمة حيوية عالية : وهي التي تزود الجسم بجميع ما يحتاجه من أحماض أمينية أساسية، وإذا لم يحصل الجسم على هذه الاحماض الامينية الضرورية في الغذاء، فإنه لا يمكن تعويضها بتناول كميات اضافية من الأحماض الأمينية غير الاساسية. ومن الامثلة على هذا النوع من البروتينات : الحليب واللحم وائبيض.

ب - بروتينات ذات قيمة حيوية منخفضة .

7 - 3 التركيب البنائي البروتيني Proteins of low Biological value

(1) عدد ونوع الاحماض الأمينية المكونة والموجودة في سلاسلها الببتيدية.

(2) تتابع الاحماض الامينية في كل سلسلة ببتيدية.

(3) التوزيع الفضائي للمجموعات المختلفة والذرات في السلسلة الببتيدية.

(4) الجسم الثلاثي والابعاد الجزيئية للبروتين.

(5) الشكل العام للجزيئة البروتينية.

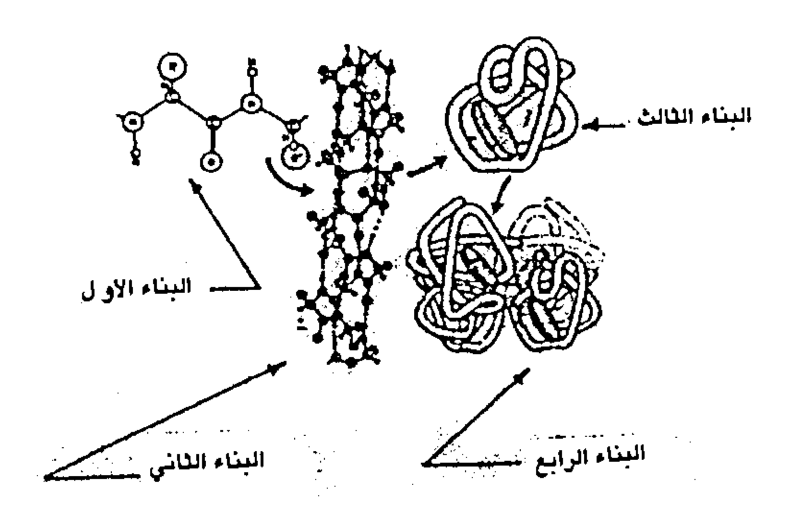
(6) تكوين عدد من الوحدات ذات استقلال نشاطي محدود.

(7) تجميع جزيئات الوحدة البروتينية مع وحدات أخرى لتكوين مجموعات ذات وزن جزيئي عال.

(8) ارتباط البروتينات مع مواد غير بروتينية.

7 - 3 - 1 مستويات تركيب البروتينات Levels protein structure

للبروتينات مستويات بنائية أربعة، تنظم بأشكال متفاوتة تحددها الصفات الفيزيائية للبروتينات، وهذه الأنواع المختلفة للمستويات يطلق على كل واحد منها : البناء (الشكل 7 - 1) .



الشكل (7 - 1) مستويات التنظيم البنائي للبروتين

أ ـ البناء الأولي Primary structure

ب ـ البناء الثاني Secondary structure

ج ـ البناء الثالث Tertary structure

د ـ البناء الرابع Quaternary structure

أ ـ البناء الأولي Primary structure

ويتحدد هذا البناء بنوع وعدد الاحماض الامينية وكذلك بتسلسل هذه الاحماض في السلاسل الببتيدية كما إن دراسة الآصرة الببتيدية تدخل ضمن دراسة هذا البناء .

يمكن توضيح السلسلة الببتيدية المتعددة بشكلها الممتد كاملاً مع أبعادها الكاملة، فالمسافة التي قدرها 7.23 انكستروم تعني المسافة المتكررة بين السلسلة الجانبية (R) والتي تليها بنفس الاتجاه.

7 - 3 - 2 طبيعة الآصرة الببتيدية Nature of peptide bond

1 ـ تتكون الآصرة الببتيدية من مجموعة الكاربوكيل الفا لحامض أميني والمجموعة الأمينية الفا للحامض الأميني الثاني.

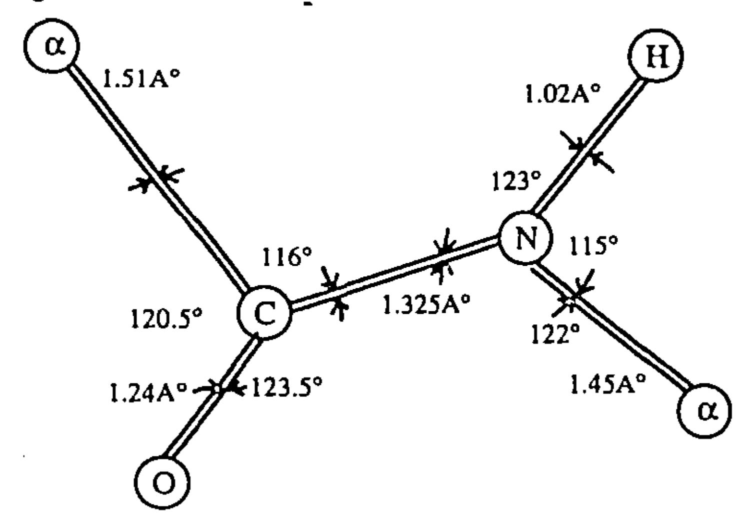
2 ـ يقع توازن التفاعل بصورة كاملة إلى جهة اليسار ويتطلب عندئذ طاقة للبناء التكويني للببتيدات المتعددة :

$$H_3N^+—\underset{R_1}{CH}—CO\bar{O} + H_3N^+—\underset{R_2}{CH}—CO\bar{O} \rightleftharpoons H_3N^+—\underset{R_1}{CH}—CO—\underset{R_2}{NH}—COO^- + H_2O$$

3 ـ تتصف الرابطة الببتيدية NH——CO بكونها تعادل 40% من الآصرة المزدوجة، أي آصرة جزئية تتبع نظام الروزانانس "Resonance system" وفق التصور التالي :

$$—\overset{O}{\overset{\|}{C}}—\underset{H}{\ddot{N}}— \rightleftharpoons —\overset{\bar{O}}{\overset{|}{C}}=\underset{H}{N^+}$$

4 ـ نظرا لكون الآصرة البـبـتـيـدية جـزئيـة فتتكون عندئذ مجموعة الآصرة الببتيدية مستوية (Planar)، وتســتطيع ان تظهـر بشكلين الســز والترانس، والاخير أكثرها وجوداً في البروتينات لقلة الإعاقة الفراغية التي تحدث بسبب مجاميع R الكبيرة :



5 ـ إن حـرية الحركة الدورانية حول الاصره نفسها معدومة مما يجعل الآصرة نفسـها مـسـتـويـة، ويحدث الدوران فـقط عند ذرة الكربون الفـا (C α) والـتي تربط مجموعتين ببتيديتين مما يجعل الآصرة الببتيدية صلبة.

7 - 3 - 3 الخطوات المستعملة لقياس التركيب الأولي للبروتينات :

أ) محتوى الاحماض الامينية ويتم بالعمليات التالية:

ـ التحلل المائي الكامل بالحمض.

ـ التجزئة الكروموتوغرافيه للمركبات الناتجة من التحلل.

ـ التحليل الكمي للأحماض الامينية.

ب) قياس الوزن الجزيئي :

ـ من الأحماض الأمينية المكونة للبروتينات.

ـ الطرق الفيزيائية.

ج) عدد وطول السلاسل الببتيدية القصيرة الناتجة من التحلل المائي بالإنزيمات.

د) موضع الآصرة الكبريتية .

(1) محتوى الاحماض الامينية mino Acid Composition

لقياس محتوى الاحماض الأمينية في البروتينات يجب القيام بالتحلل المائي لهذه البروتينات، بعدها يتم تحليل النواتج المتكونة من هذا التحلل بطرق مختلفة مثل الكرموتوغرافيا وغيرها .

1 ـ التحليلات الكرموتوغرافية : تستعمل الراتنجات من النوع الأيوني المتبادل الموجب لفصل الأحماض الأمينية، وهي مشتقة من المركب الستايرين المتعدد Polysty-rene .

كما تستعمل الراتنجات ذات التبادل الأيوني السالب والتي تحضر بإضافة مجاميع مثل كلورايد CH2 CL إلى حلقة البنزين الموجودة في السلسلة المتشعبة من الستايرين، بعدها يعامل الناتج مع الأمينات المختلفة :

الشكل (7 - 2) الراتنجات ذات التبادل الايوني

(2) الطرق الكيمياوية Chemical methods

وهي من الطرق القديمة التي تعتمد على استخلاص الاحماض الأمينية ومشتقاتها معتمدة على تفاعلها مع بعض المواد الكيمياوية الخاصة (والتي ذكرت سابقاً في حقل التفاعلات الكيمياوية للأحماض الامينية).

الانسولين

مثال لقياس التركيب البنائي الأولي

الانسولين :

وهو أول بروتين عرف تركيبه البنائي الأولي بواسطة العالم Sanger وله وزن جزيئي قدره 6000.

تطبيق طريقة سانجر Sanger

أولاً : تشخيص النهاية النتروجينية : توجد نهايتان، وقد تم استخلاص 2 من الاحماض الامينية في النهاية النتروجينية وهما : الكلايسين، والفينيل الانين.

ثانيـاً : تحليل النهاية الكربونية : وجد هناك حامضان أمينيان : الاسباراجين والالانين في هذه النهاية.

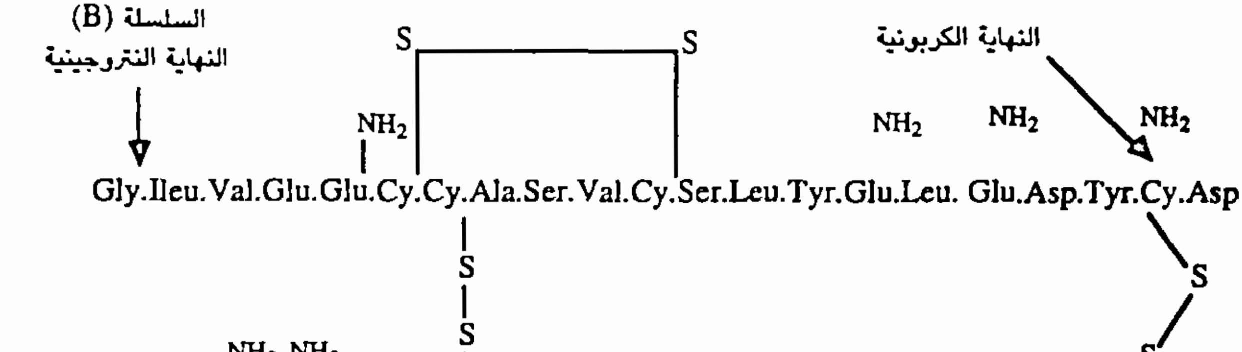
ثالثـاً : تحليل الأواصر السـيـسيتية (ثنائي الكبريتيد) : تحتوي جزيئة الانسولين على أواصر سـيـسـتيتية، فعند معاملة الانسولين مع حامض البيرفورميك يتكون 2 من الببتيدات المتعددة المحورة A و B .

رابعـاً : تحليل ترتيب الأحماض في الببتيدات المتعددة التي تم فصلها في ثالثاً. وجد أن للسلسلة A نهايتـان نتروجـينيـة فيها حامض الكلايسين، ونهاية كربونية تقع عليـها الاسباراجين، بينما في السلسلة B نهايتـان تنروجينية يقع عليها لفينيل الانين، وكربونية تحتوي على الالانين. كما تحتوي السلسلة A الموجودة على 4 مكونات من حامض سيستيك "Cysteic" بينما B على 2 من مكونات حـامض سيستيك

ويمكن اقتراح التركيب البنائي الأولي التمهيدي التالي للانسولين :

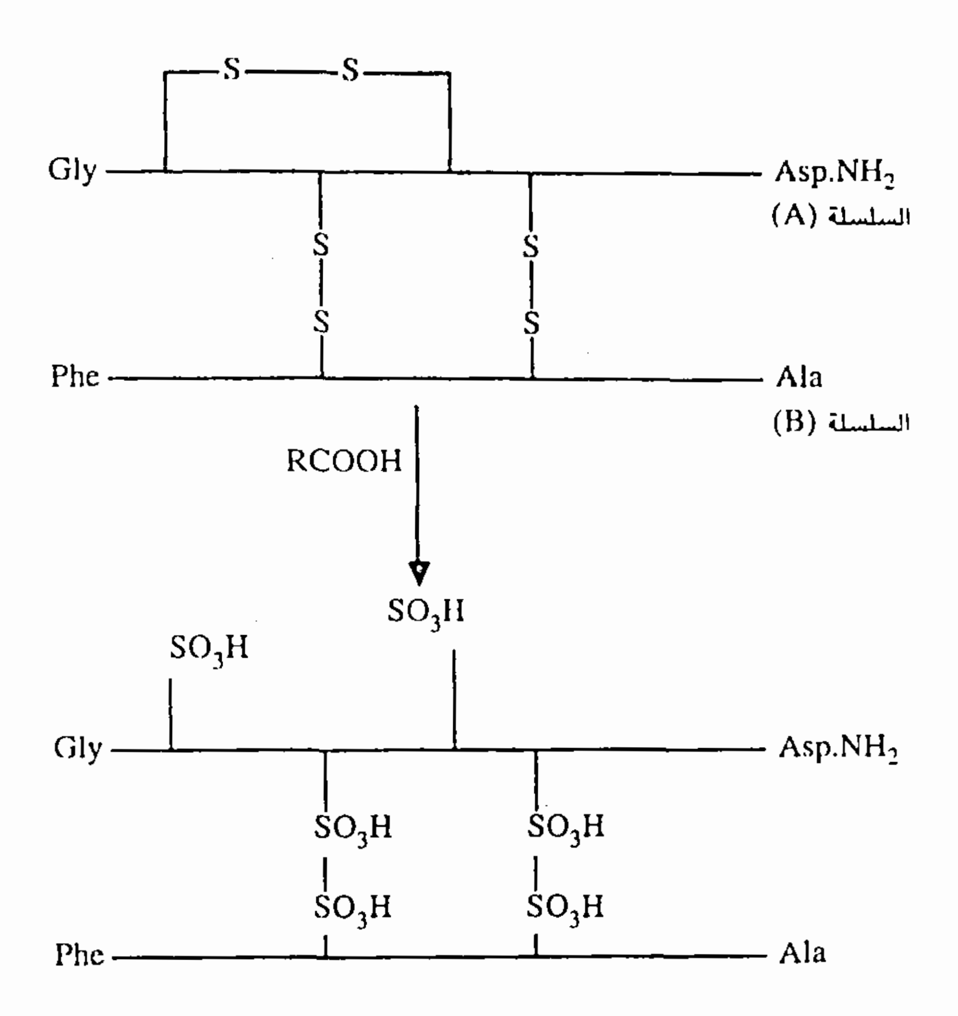
الشكل (7 - 3)

التركيب البنائي الأولي للانسولين البقري



Ala = alanine
Arg = arginine
Asp = NH_2 = asparagine
Cy-S-S-Cy = cystine
Glu = glutamic acid
Glu NH_2 = glutamin
Gly = glycine
His = histidine
Ileu = isoleucine
Leu = leucine
Lys = lysine

Phe = phenylalanine
Pro = proline
Ser = serine
Thr = threonine
Tyr = tyrosine
Val = valine



مثال على التسلسل :

يمكن تحديد تسلسل الأحماض الأمينية في السلسلة الببتيدية المتعددة بطرق مختارة كيميائية وإنزيمية تستطيع أن تشق البروتين، بعدها تفصل الأحماض الأمينية وتثبيت تسلسل هذه الأحماض للمقاطع الببتيدية، كما إن تسلسل الأحماض الكلية يثبت بواسطة تراكب (Overlapping) المناطق المتشابهة لكل مقطع ويمكن توضيح ذلك وفق الطريقة التالية:

للببتيد الأصلي هو الـ met- trp- ser- pro ، كما إن الحامض الأميني الذي يتبع المثيوين يجب ان يكون الفينل الانين، لذا فإن التسلسل النهائي هو phe-met-trp-ser-pro .

يشق التربسين الجانب الكاربوكسيلي للايسين والارجينين على هذا الأساس وإن الحامض الأمين الثاني الذي يوفر مجموعة الأمين ليس ببرولين، ونظراً لأن الالانين في النهاية النتروجينية، لذا يبدأ التسلسل ويكون ala- arg- ser- lys وإن التسلسل العام يكون كما في الصفحة .

7 - 3 - 4 البناء الثاني

وهو المستوى الذي يتعلق بوضعية التركيب التكويني الوضعية (Conformation) للسلاسل الببتيدية وبصورة أدق يمثل التفاف هذه السلاسل مع بعضها بشكل حلزوني والأخير يتخذ ثلاثة أشكال :

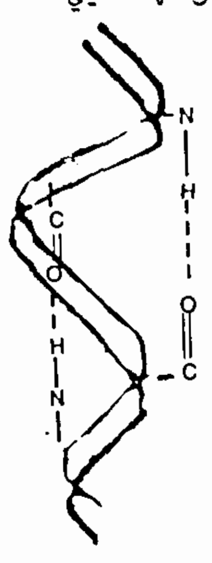
أ ـ الحلزون الفا α-Helix : يكون هذا النوع نتيجة التفافات حلزونية تلتف السلاسل الببتيدية على طول بعضها.

ب ـ الشكل بيتا الحلزوني β-Helix : تربط السلاسل الببتيدية دون التفاف مكونة حلزوناً عن طريق روابط ثانوية متعددة كالتي في بروتينات الحرير الطبيعي.

جـ ـ السطح المنطوي Pleated sheet : وتوضع في هذا المستوى من البناء معالم الوضعية ذات الأبعاد الثلاثية والتي تشمل الأواصر المختلفة التي تساهم بالتفاف الببتيدات على بعضها ومنها ما يلي :

—C=O—H—N—
—N—H—O=C—

(1)



The alpha Helix الحلزون الفا

من أكثر الحلزونات البنائية انتشاراً في البروتينات، وهو أول ما تم دراسته بصورة مستقبطة من خلال الجهود التي بذلها بولنك وهو معروف بالحلزون ذي 3.6 حامض أميني بالدورة الواحدة ودرجة تقدر بـ 1.5 (Pitch) لكل حامض أميني كما ان المجاميع R للأحماض الأمينية تتجه عن محور الحلزون. ويثبت الحلزون جزئيا بواسطة الأواصر الهيدروجينية لمجموعة الأمين الفا من الحامض الأميني وذرة الهيدروجين لمجموعة الأمين الفا من الحامض الأميني الذي على بعد أربعة أحماض أمينية. وإن الأواصر الهيدروجينية الجسرية من الأوكسجينات الكربونلية والهيدروجينات الأمينية في نهايات 13 ذرة متصلة تساهمية في الببتيد المتعدد.

7 - 4 الصفات الفيزيائية والكيميائية للبروتينات

(1) الطعم Taste : للبروتينات المحللة مائياً Hydrolyzed proteins طعم مر، بينما لا طعم للنقية منها.

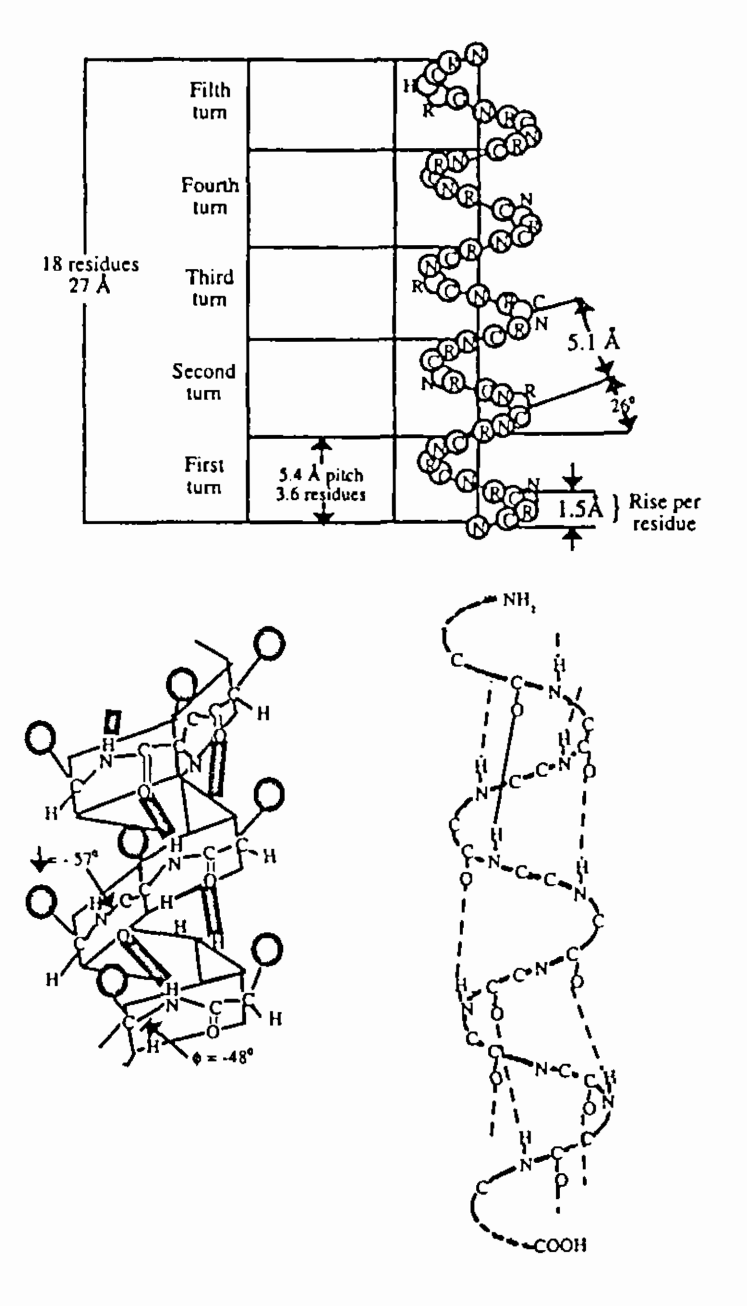
(2) الرائحة Cdor : ليس للبروتينات النقية رائحة بينما تتضح حين تسخينها معطية رائحة الشعر أو الريش المحروق.

(3) الوزن الجزيئي : البروتينات مركبات ذات أوزان جزيئية عالية تتصف بعدم نفاذها خلال الأغشية المنفذة وتكون محاليل غروية.

(4) الصفات الطيفية

طرق تقدير الأوزان الجزيئية للبروتينات :

هناك طرق متعددة لتقدير هذه الأوزان بالاعتماد على الصفات الفيزيائية لها. إن معظم الطرق لا تقدر الوزن الحقيقي بل تقدر عدد الوحدات التي توجد في أصغر صورة ممكنة من المادة في المحلول.



الشكل (7 - 4)

طرق مختلفة لتوضيح الحلزون الفا.

عن Biochemical calculation, Segal

الملامح الرئيسية للحلزون (الفا) النموذجي :

أ ـ يلاحظ من الشكل (7 - 4) :

أ ـ وجود 3,6 مكونات في كل التواء (Turn) ، وتظهر جميع السلاسل الجانبية مبتعدة عن الحلزون .

ب ـ يبلغ طول الانحناء 5.4 انكستروم (Å) أو 1.5 انكستروم لكل مكون حمضي.

جـ ـ يبلغ قطر الحلزون (الفا) 6 انكستوم مع عدم احتساب السلاسل الجانبية.

د ـ ان ذرة أوكسجين في كل مجموعة كاربونية في الآصرة الببتيدية ترتبط بآصرة هيدروجينية على مجموعة N—H التي تبعد بمقدار (4) مكونات حمضية عنها وتساهم هذه الأواصر الهيدروجينية في استقرار الشكل الحلزوني.

نموذج الحلزون الفا :

1 ـ الأواصر الهيدروجينية بين NH و C=O تتضمن ثلاث وحدات، حيث إن المسافة O-----N = 2.8 انكستروم.

2 ـ الحلزون يميني الاتجاه.

3 ـ جميع الأحماض الأمينية من النوع —L.

4 ـ الأصرة البـبتيدية في مستوى واحد، والمسافة بين C—N = 1.32 انكستروم.

5 ـ يحدث الالتفاف على Cα فقط.

6 ـ السلاسل الجانبية وهيدروجين Cα تعرض خارج محور الحلزون.

7 ـ إن جميع الاواصر الهيدروجينية تكون موازية إلى المحور الحلزوني.

8 ـ التركيب البنائي قضيبي الشكل وصلب .

التراكيب البنائية ذات السطح المنطوى المثينة بيتا β– pleated sheet

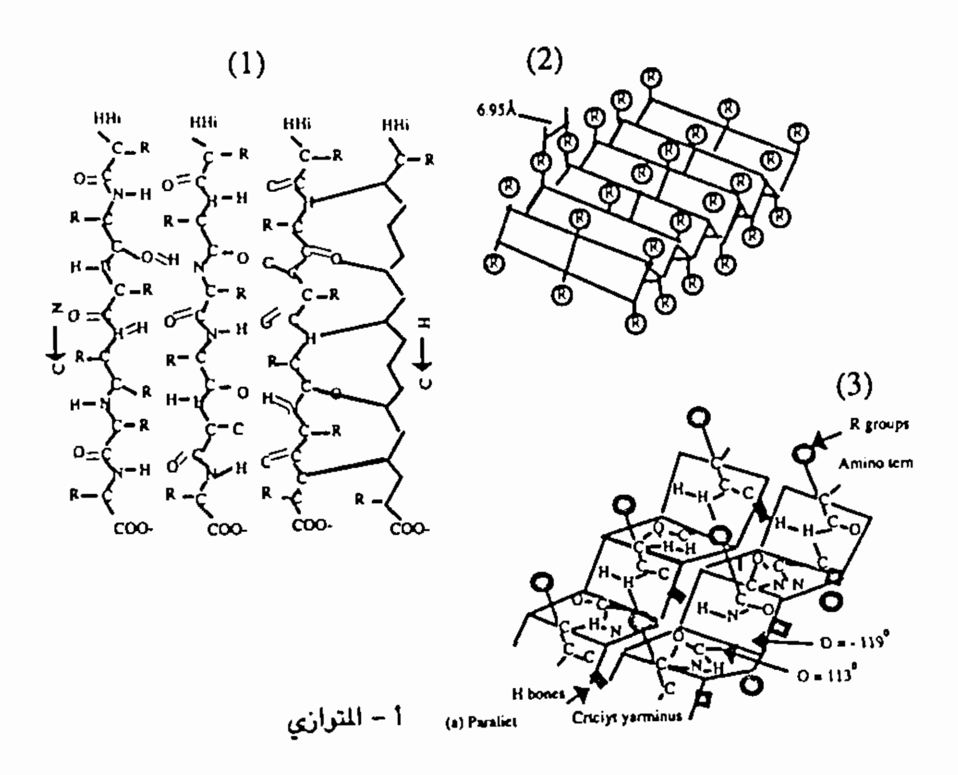
تتكون هذه التراكيب بواسطة الأواصر الهيدروجينية بين السلاسل البـبتيدية المتعدده أو مناطق على نفس السلسلة، فالاواصر الهيدروجينية بين الحزمات تكون عمودية على المحور الطويل للسلاسل الببتيدية المتعددة.

تكون السلاسل الببتيدية المتعددة المتقاربة ضد التوازي "antiparallel" وتتجه

باتجاهات معاكسه بالنسبة الى النهايات النتروجينية والكربونية ومع هذا نلاحظ وجود بعض التراكيب البنائية ذات السطح المنطوي بيتا في المناطق الداخلية للبروتينات الكروية التي تحتوي على سلاسل ببتيدية متعددة متوازية وأنها أقل استقراراً من التركيب ضد التوازى التي تعود إلى وجود الاواصر الهيدروجينية عبر الخطة.

يختلف هذا النوع من التركيب البنائي بصورة واضحة من الحلزون الفا بكونه سطحاً وليس قضيباً، ذا سطح ممتد وليس ملتفاً بصورة قوية كما يحدث في الحلزون الفا وكذلك تكون المسافة المحورية بين الاحماض الأمينية المتلاصقة تساوي 3.5 انكستروم بعكس المسافة في الحلزون الفا التي تبلغ 1.5 انكستروم .

اما الاحماض الأمينية متكررة التسلسل ذات مجاميع R الصغيرة مثل الكلايسين والالانين فتميل إلى تكوين الشكل بيتا (β) أو ما يسمى بـ السطح المنطوي (pleated structure) والذي يتكون من سلاسل ببتيدية متعددة متوازية (parallel) أو ضد التوازي متصلة بواسطة الاواصر الهيدروجينية التي تربط هذه السلاسل، لاحظ الشكل (7 - 5) .



أ – المتوازي

ب – التركيب البنائي
بيتا ضد التوازي

الشكل (7 - 5)

أ ـ ثلاثة توضيحات للتركيب بيتا المتوازي 1, 2, 3.

ب ـ التركيب البنائي بيتا ضد التوازي

الصفحة المنثنية ـ بيتا Beta- pleated sheet

Biochemical calculation, Segal

7 - 3 - 5 التركيب البنائي الثلاثي Tertiary Structure

لجـميع البروتينات غير الليفية تركيب بنائي ثلاثي دقيق المعالم ومتلاحم من قبل الحلزون الفـا العشوائي للببتيدات المتعددة حيث تنحني السلسلة وتلتوي أماماً وخلفاً على نفسها.

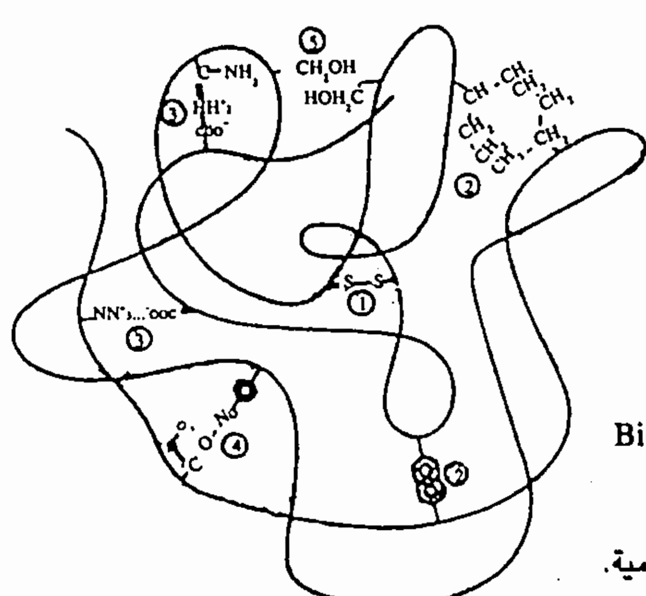
ويمثل الشكل (7 - 6) البروتين الفرضي المتكون من سلسلتين من الببتيدات المتعددة الذي يوضح فيه :

أ ـ اتصال السلسلتين برابط ثنائي الكبريتيد.

ب ـ وجود الرابطة ثنائي الكبريتيد ضمن السلسلة الببتيدية.

ج ـ ينقصها التركيب البنائي الثلاثي.

الأواصر في التركيب البنائي الثلاثي :



الشكل (7 - 6)

عن Biochemical calculation, Segal

وهي:

1 ـ الأواصر ثنائية الكبريتيد التساهمية.

2 ـ الالتحامات الهيدروفوبية (الكارهة للماء).

3 ـ الالتحامات الأيونية (الأواصر المحلية).

4 ـ الأواصر الهيدروجينية.

5 ـ الالتحامات ثنائية القطب ـ ثنائية العطب.

وتساهم هذه الاواصر في التكوين النهائي للتركيب البنائي الثلاثي في البروتين. فمثلاً، تقوم الأواصر غير التاهية بين الحلزونات الفا، وتركيبات وبيتا، مع السلاسل الجانبية والهياكل الرئيسية للبروتين.

مثال على التركيب البنائي الثلاثي

السايتوكروم

يتضح من الشكل (7 - 7) ما يلي :

1 ـ إن مجاميع السلسلة الجانبية غير موجوده لكي تعطي وضعية واضحة لسلسلة ببيتدية متعدده عامة.

2 ـ وجود شريط مرسوم بصورة تخطيطية يوضح العلاقة الفضائية لمقاطع من الببتيد المتعدد والكاربونات الفا لمكونات الأحماض الامينية في التركيب البنائي الاولى.

3 ـ وجود مجاميع السلسلة الجانبية للمتيونين 80 (Met- 80) - والـ 18- HIS التي تكون أواصر تناسقية للمجموعة الهيمة.

4 ـ ارتباط الـ Met—80 و His—18 وكذلك المكونات الاخرى المنفصلة عن بعضها في التركيب البنائي الأولي إلى الموقع الهيمي في البروتين .

7 - 3 - 6 البناء الرابع Quaternary structure

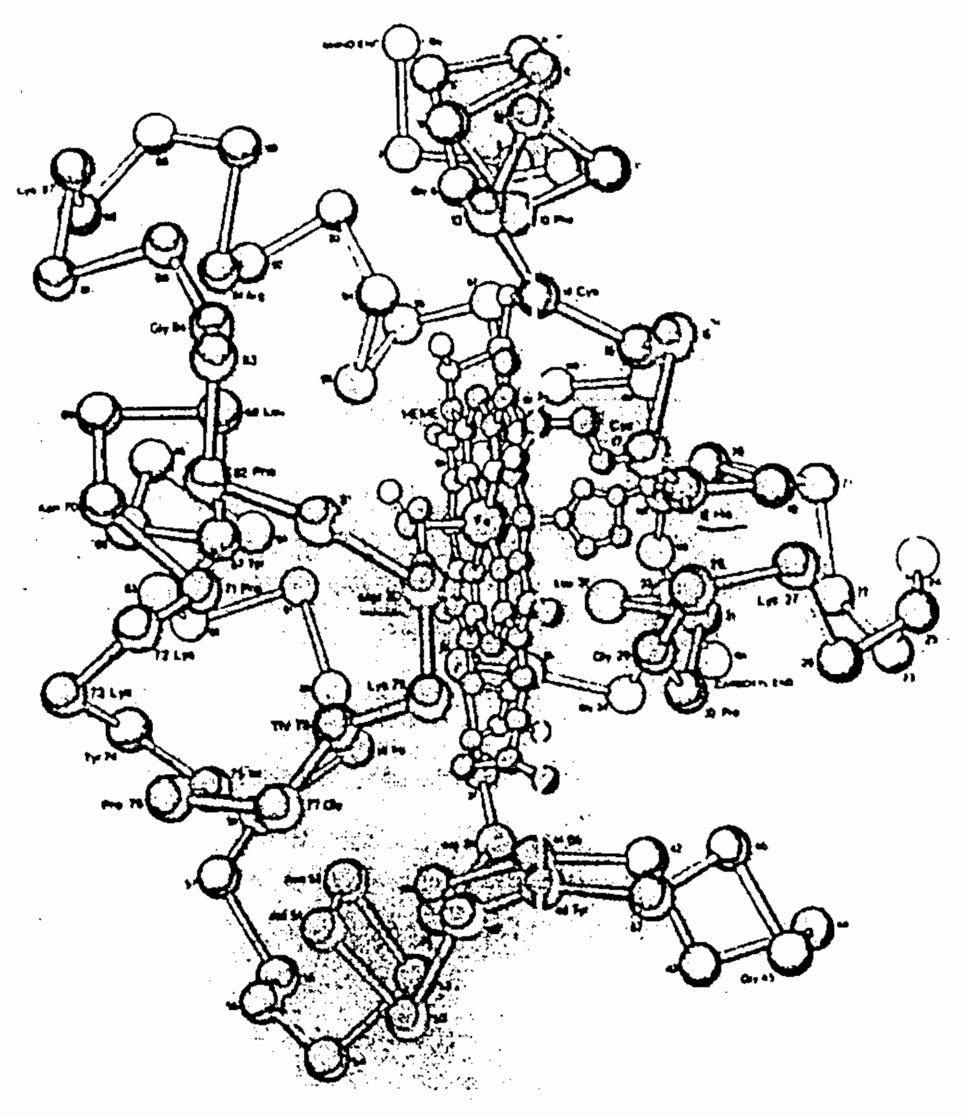
ينتج من تجمع بعض جزيئات البروتين مع بعضها عن طريق بعض الروابط الخاصة مثل رابطة ثنائية الكبريتيد، وينتج هذا البناء من اتحاد الوحدات الملتفة في مجاميع ثابتة نسبياً. ومثال هذا النموذج هو الهيموغلوبين.

1 ـ تكوين الألياف Fibril Formation

تتمكن بعض البروتينات من الالتحام مكونة أبنية متمددة باشكال ليفية وباحجام غير محددة من هذه البروتينات التي يحصل بها التحويل من الشكل الكروي إلى الالياف الكولاجين ـ Collagen .

انظر الشكل (7 - 8)، وتتـوضـح في هذا الشكل الخطوات السـبع التي يتم فيها هذا التحويل ابتداءاً من الأحماض الأمينية وانتهاءاً بالألياف الكولوجينية.

النهاية النتروجينية



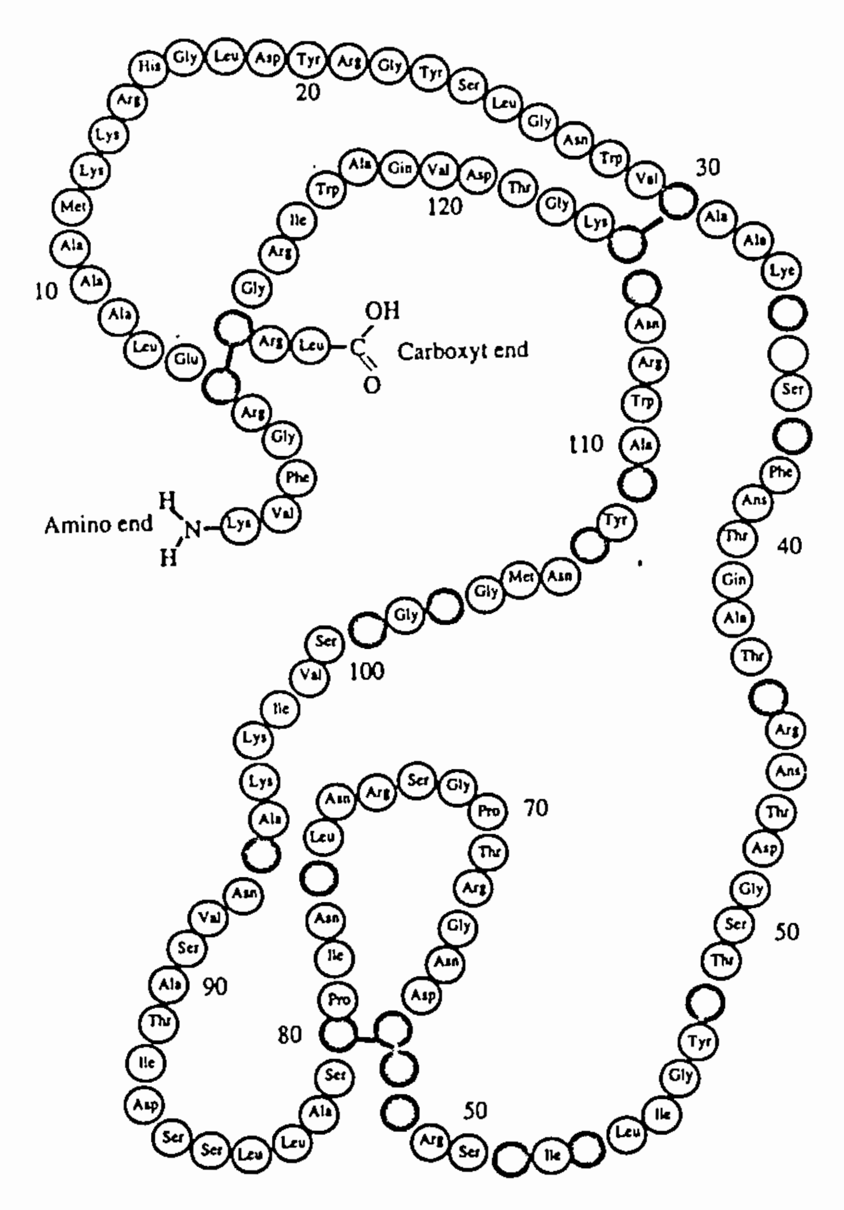
الشكل (7 - 7)

التركيب البنائي ثلاثي الابعاد في السايتوكرم C.

يتـضح من الشكل أعلاه وجود ذرات الكاربون ـ الفا لجميع الأحماض الأمينية في

السلسلة البـبتيدية، عدا المثيونين والهستيدين التي ترتبط بالمجموعة الهيمية الموجودة في مركز التركيب البنائي، وترقم الأحماض الأمينية من النهاية الأمينية.

عن Princviples of Biovhemistry, Smith, Hill



خطوات تكوين الألياف (الكوجلاجين)

الشكل (7 - 8)

الجدول (7 - 2)

الطرق المستعملة لعزل وتوصيف البروتينات

الطريقة	العامل الرئيس	العامل المعاكس	يعتمد الفصل بصورة اولية على
(1) التوزيع المعاكس للتيار، الديلزة، الترشيح الفائق	ميكانيكي	الذوبان	التجزئة التفاضلية
	التأثيرات الاسموزية، تدرج التركيز، القوة الهيدروداينامية	تاثيرات الغربال الجزيئي	الحجم الجزيئي
(2) النبذ بالسرعة الفائقة	قوة النبذ	الاحتكاك الطفو الانتشار	الحجم الجزيئي الشكل، الكثافة المؤثرة
(3) الترحيل الكهربائي الحدود المتحركة	القوة الكهروستاتيكية	الاحتكاك الانتشار	الصفات الأيونية الجزيئية
المنطقة	القوة الكهرو ـ ستاتيكية	الاحتكاك، الانتشار تاثيرات الغربال الجزيئي	الصفات الأيونية الجزيئية
غير المستمر	القوة الكهرو ـ ستاتيكية	الاحتكاك، الانتشار تاثيرات الغربال الجزيئي	الصفات الأيونية الجزيئية والحجم الجزيئي
الترحيل الكهربائي المناعي	القوة الكهرو ـ ستاتيكية	الانتشار، التاثيرات الغربالية الجزيئية	الصفات الأيونية الجزيئية والنشاط البايولوجي
(4) النبذ بتعادل الشحنة	القوة الكهرو ـ ستاتيكية	الانتشار	الصفات الأيونية الجزيئية
(5) الكروموتوغرافيا الورقية	القوة الهيدروديناميكية	تاثيرات التفكك والاتحاد والانتشار	الامتزاز، فروقات التجزئة
(6) كروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة	القوة الهيدروديناميكية	التفكك والاتحاد والانتشار	الامتزاز، فروقات التجزئة
(7) كروموتوغرافيا التبادل الأيوني	القوة الهيدروديناميكية	القوة الالكتروستاتيكية	الصفات الأيونية الجزيئية
(8) كروموتوغرافيا الالفة	القوة الهيدروديناميكية	الميل الجزيئي	النشاط البايولوجي

الطريقـــة	العامل الرئيس	العامل المعاكس	يعتمد الفصل بصورة أولية على
(9) الترشيح الهلامي	القوة الهيدروديناميكية	تأثيرات الغربال الجزيئي	الحجم الجزيئي
(10) كروموتوغرافيا الغاز	ضغط الغاز	الانتشار	الامتزاز، الفروقات التجزئة

4 - 7 شكل جزيئات البروتين

يمكن قياس شكل جزيئات البروتين بعدة طرق منها :

أ ـ ثابت الترسيب .

ب ـ ثابت الانتشار (D).

ج ـ حساب نسبة الاحتكاك f/f0 من المعادلة التالية :

$$\frac{f}{f_0} = 10^{-8}\left(\frac{1-\overline{V}_P}{D_S^2\ \overline{V}}\right)^{\frac{1}{3}}$$

عند الحصول على قيمة f/f0 تساوي 1، فمعنى ذلك أن الجسم خالي من الماء وكروي وإن زادت على أن الواحد فهذا يدل على البروتين غير متناسق أو حامل للماء أو الاثنين معا، وعليه يستدل أن أشكال البروتين يمكن تحديدها بما يلي :

1 ـ البروتينات الكروية مثلب الرايبونكلييز والانسولين.

2 ـ البروتينات شبه الكروية.

3 ـ البروتينات غير متناسقة الشكل .

أ ـ صورة المجسم الناقص مثل المايوسن (ellipoids)

ب ـ صورة القضبان "rods".

وبعد الحصول على معلومات يتحدد فيها شكل البروتين يمكن معرفة لزوجته التي تعتمد على وزنه الجزيئي أيضاً، فتتصف البروتينات غير المتناسقة بان لها درجة لزوجة أعلى من البروتينات الكروية ذات نفس الوزن الجزيئي.

7 - 5 تركيد البروتينات Precipitation of proteins

(1) التمليح الخارجي والداخلي للبروتينات Salting in & Salting out of proteins

عند إضافة محلول متعادل من كلوريد الصوديوم أو كبريتات المغنيسيوم أو كبريتات الامونيوم تتركد البروتينات معتمدة على نوعية وعلى تركيز هذه الأملاح. إن سبب حدوث التركيد يعود الى تعادل شحنات جزيئات البروتين بواسطة الشحنات التي تحملها أيونات الأملاح، ونتيجة لهذا التعادل، فإنها تتجمع وتنفصل، وتسمى هذه الظاهرة بالتصليح الخارجي، أما التراكيز القليلة من الأملاح المتعادلة فقد تزيد من ذوبان البروتينات في المحلول، وتسمى حينئذ بالتمليح الداخلي "Salting in "، تتركد البروتينات وهي بحالتها الطبيعية بالأملاح المتعادلة، ويمكن إعادة إذابتها حيث أن التركيد عكسي - بدون ان يطرأ عليه اي تغيير على طبيعة تركيب الاحماض الامينية.

تؤثر الأملاح المتعادلة كما ذكرنا على إذابة البروتينات الكروية، ففي تراكيز واطئة تزيد الأملاح من إذابة البروتينات المختلفة وتسمى هذه الظاهرة بالتصليح الداخلى وتعتبر الايونات الثنائية الشحنة مثل $MgCl_2$ ، وكبريتات الامونيوم $(NH_4)_2SO_4$ أكثر تأثراً للحصول على التمليح الداخلي من الايونات ذات الشحنات الاحادية مثل كلوريد الصوديوم NaCL وكلوريد الامونيوم NH_4CL وكلوريد البوتاسيوم KCL كما إن قابلية الأملاح المتعادلة لتؤثر على إذابة البروتينات تعتمد على القوة الأيونية Ionic strength وربما يعود إلى قيام الملح بسحب الماء البروتيني فتقل درجة إذابتها .

ويوضح الشكل (7 - 9) زيادة ذوبان البروتين (هيموغلوبن الحصان)، وعليه فإن الذوبان يعتمد على تركيز الأيونات والذي يمكن حسابه من التركيز المولاري للايونات وشحناتها وحسب المعادلة التالية :

$$\mu = 1/2 \in m Z^2$$

μ = تركيز الأيونات .

m = المولالية .

Z = شحنة الأيون.

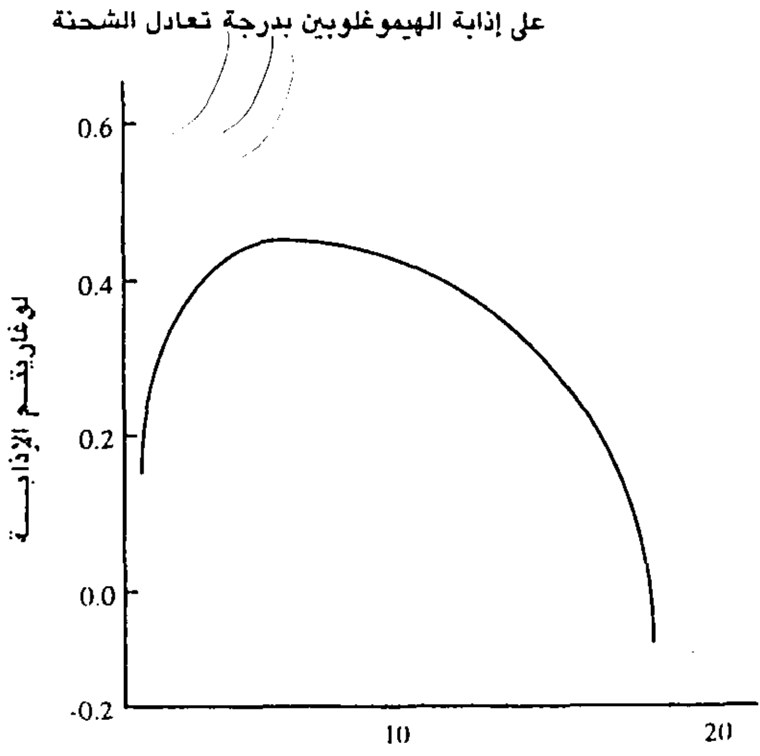
(2) التركيد بواسطة المعادن الثقيلة

تتم عملية التركيد بواسطة تكون معقدات تربط البروتينات بأيونات المعادن الثقيلة، وتستعمل كطريقة لفصل البروتينات باستعمال بعض هذه الأيونات مثل الزئبق Hg^{++} الكادميوم، Cd^{++} الزنك، Zn^{++}.

الشكل (7 - 9)

تاثير الملح المتعادل كبريتات البوتاسيوم K_2SO_4

على إذابة الهيموغلوبين بدرجة تعادل الشحنة



7 - 6 قابلية الذوبان عند البروتينات

بعض البروتينات سـهل الذوبان في الماء مـثل الاليـومين، والبعض الآخر يذوب في المحاليل المخففة مثل الكلوبيلين، وهناك البروتينات التي تذوب في القلويات مثل الكازين في الحليب. أما الكيراتين "Keratin" الموجودة في الأظافر والحوافر فهي لا تذوب في الماء وتذوب البروتينات التي تحـتوي على البرولين "Proline" والهيـدروكسي برولين "OH Proline" في الكحـولات، وتعـتـمـد قابلية ذوبانها على البروتينات في المحاليل المختلفة، وعلى التركـيب الكيـميائي لها، وعلى الأس الهيدروجيني للمحاليل (pH) ، حـيث تكون قابلية الذوبان قليلة جداً في نقطة التعادل الكهربائي (Isoelectric point).

1 ـ طرق فصل البروتينات التي تعتمد على الاختلاف في الإذابة :

تتأثر إذابة البروتينات في المحاليل بصورة كبيرة :

(1) درجة الأس الهيدروجيني.

(2) القوة الأيونية .

(3) ثابت العزل الحرارى للمذيبات.

(4) درجة الحرارة.

وهذه المتغيرات ـ تعكس حقيقة كون البروتينات الكتولايت (الشوارد) ذات أوزان جزيئية عالية وتستعمل لغرض فصل خليط منها .

7 - 7 مسخ البروتينات Denaturaticn of proteins

إن فـقـدان الـتركـيـب الـبـنـائي ثـلاثي الابعـاد المنظمـة بدقـة يرتبط بعـمليـة المسخ (Denaturation)، ويسـمى التركـيب البنائي غير المنظم الناتج من عـملية المسخ بالملف العشوائي "random coil". ويرافق عملية المسخ :

أ ـ فقدان النشاط الحياتي للبروتين.

ب ـ النقصان في قابلية الإذابة.

جـ ـ الزيادة في قدرة الإنزيمات التي تكسر البروتينات.

عندمـا يكون سـبب المسخ درجـات الحرارة والأس الهيدروجيني المتطرفة، يكون المسخ هذا من النوع اللاعكسي نظراً لحصول نوع من إعادة ترتيب القوى التساهمية.

أمـا المسخ الخفيف فيمكن الحصول عليه بواسطة التراكيز المرتفعة من اليوريا (8 مول)،املاح الكوانيدينوم (4 إلى 6 مول)، أو المنظفات مثل الـ (sodium dodecyl sul-phate (SDS).

7 - 8 استخلاص وتنقية البروتينات

Isolation and purification of proteins

إن تعـدد البروتينات ونشـاطاتها الحـيـاتيـة والاختلافات الكيميائية بينها جعلت عـمليـة الاسـتـخـلاص والتنقـيـة وتحديد الصفات البروتينية من أساسيات الكيمياء الحـياتية، فقد تم تنقية عدد كبير من البروتينات بهيئة بلورات وباشكال مختلفة، ومن المتطلبات الرئيسية في عمليات التنقية تحرير البروتينات من الخلية بدون تلف نشاطها بـطـرق المزج الميكانيكي وتجـانس "Homogenization" الانسـجـة الحـيوانية والتي تسـتعمل لتكسير جدران الخلايا وتحرير مكوناتها، كما أن هناك طرق أخرى تستعمل الصوتية Sonication ، والـطـحن بالرمل "Grinding With sand"، أو التـجزئة بالضغط العالي.

فإن وجـد البروتين في أحـد أجـزاء الخليـة، يمكن اسـتـعمال الاخير كـمواد أولية لتنقـيـتـه بصـورة أكبر، وبعـد الحـصول على البروتين بشكل ذائب يمكن حينئذ عزل البروتينات الأخـرى بالطرق التي ذكـرت سـابقـاً مـثل، بؤرة تعـادل الشـحنة (التبئر الكهربائي) isolectric focusing، التـجـزئة بالتـملح الخـارجي، الترسـيب بالمذيب، كروموتوغرافيا الطرد الجزيئي، كروموتوغرافيا التبادل الأيوني وغيرها.

يمكن الكشف عن نقاوة البروتينات بالطرق التالية :

أ ـ قـابليـة الذوبان : لكل نوع من البروتينات قـابليـة ذوبان مـتميزة في مذيب معين، يمكن عن طريقها استخلاص البروتين المناسب.

ب ـ الترحيل الكهربائي .

ج ـ طرق الفصل الكروموتوغرافي.

د ـ الكشف عن المكونات الموجودة في البروتينات مثل المعادن وغيرها .

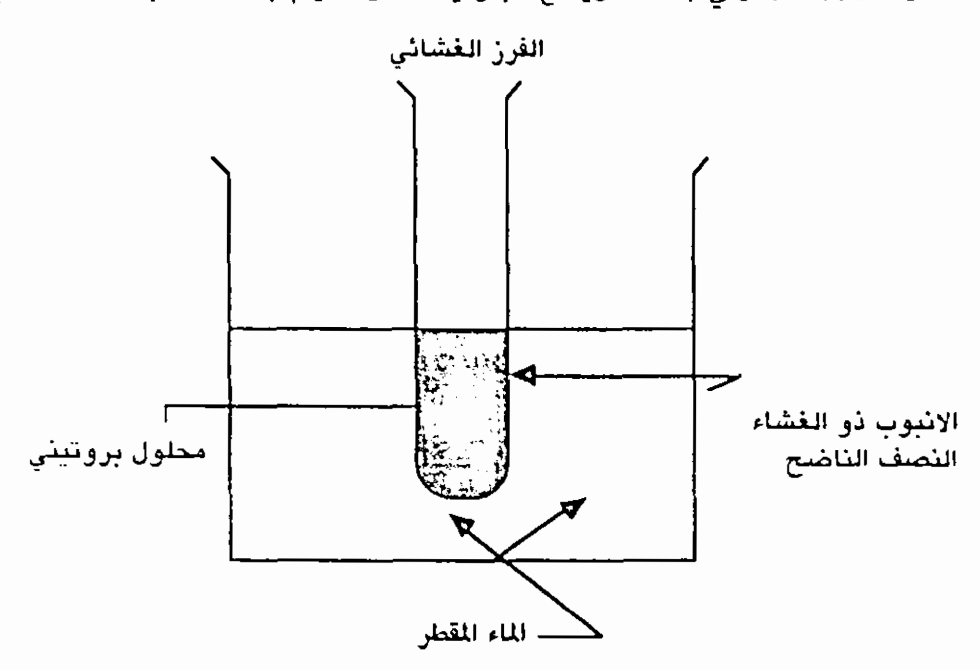
هـ ـ الطرق المناعية.

و ـ استعمال أجهزة النبذ المركزي عالية السرعة.

(1) طرق فصل البروتينات التي تعتمد على حجمها الجزيئي

(أ) الفرز الغشائي Dialysis

يمكن فصل البروتينات الكروية من المذاب ذي الأوزان الجزيئية الواطئة بطريقة الفرز الغشائي، ويعتمد ذلك على استعمال الغشاء نصف النفاذ الذي يسمح للمذاب صغير الوزن الجزيئي بالنفاذ ويمنع البروتينات من القيام بذلك حسب الشكل التالي.



(ب) التركيد الموقعي ذو التدرج بالكثافة

Density gradient (Zonal) Centrifugation

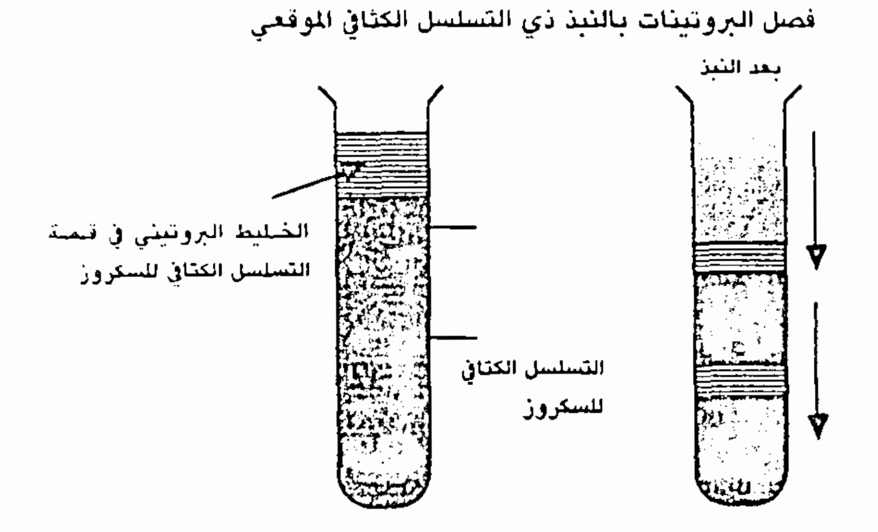
نظراً لقابلية البروتينات في المحاليل لأن تتركد بسرعة عالية مقاومة الانتشار (Diffusion) فمن الممكن فصل خليط بروتيني بطريقة النبذ وبالأخص ذي التسلسل

الكثـافي الموقـعي. وتتم العملية حسب الأشكال التالية، وذلك بوضـع تسلسل كثافي من السكروز في أنبـوبة بلاسـتـيكيـة يخلط فـيها محلول السكروز المركز مع الماء بنسب تنازلية إلى أعلى الانبوبة.

بعـد ذلك يضـاف الخليط البروتيني بطبـقـات على قمة الأنبوبة. وتتم عملية النبذ الافقي في الدوار "Rotor" بسرعـة عـاليـة ويمكن بذلك تحديد مواقع الحزم البروتينية بصـورة ضـوئيـة، أو إزالة محتـويات الأنبـوبة بصـورة دقـيقة بواسطة ثقب في قعر الانبوبة (انظر الشكل 7 - 11).

الشكل (7 - 11)

فصل البروتينات بالنبذ ذي التسلسل الكثافي الموقعي



(ج) كروموتوغرافيا الطرد الجزيئي

Molecular- Exclusion Chromatography

ويسـمى أيضـا الترشيح الهلامي "gel filtration" أو كـرومـوتوغرافيا الغربال الجزيئي "Molecular sieve Chromotography".

وتسـتعمل في هذه الطريقة مواد السيفادكس "Sephadex" وهي مشتقات سكرية متعددة، أو البايوجل Bio- Gol وهي مـشتقات اكربلامايد أو الـ اكاروز "Agarose"

السكرية المتعددة، وتحضر هذه جميعاً بدرجات مختلفة من المسامية. ونظراً لاستعمال البروتينات باوزان جزيئية مختلفة فبعضها تدخل في المسامات الداخلية بدرجات مختلفة. لذا فهي تتحرك في العمود بسرعة مختلفة (انظر الشكل 7 - 12) فالبروتينات ذات الأوزان الجزيئية العالية لا تدخل في المسامات، فتطرد خارجها، بينما البروتينات الصغيرة تدخل في المسامات بصورة حرة وتمنع من الخروج بسرعة، أما البروتينات ذات الأوزان الجزيئية المتوسطة فتطرد من المسامات بدرجات محدودة.

(2) طرق الفصل التي تعتمد على الشحنة الكهربائية

Seperation procedures based on electrical charges

تعود طرق فصل البروتينات التي تعتمد على الشحنة الكهربائية إلى صفاتها القاعدية والحامضية لوجود عدد من المجاميع الايونية في السلاسل الببتيدية. ونظراً لاختلاف البروتينات في تركيب وترتيب الاحماض الامينية فيها فينتج عن ذلك صفات قاعدة حامضية متميزة لكل منها فمنحني التصحيح للبروتين الرايبونكلييز "Ribonuclease" الذي يحتوي على 124 حامضاً امينياً ويمتلك 34 منها مجاميع متأينة R إضافة إلى النهايتين الكربونية والنتروجينية والتي تمثل المجاميع الأيونية المختلفة لها.

البروتينات جزيئات ذات شحنة

يمكن فهم التفاعلات التي تمارسها البروتينات إذا عرفنا عدد ونوع المجاميع النشطة في السلاسل الجانبية للأحماض الأمينية الموجودة على السطح الجزيئي للبروتينات (الشكل 7 - 13).

(1) المجاميع الأمينية الناتجة من الحامض الأميني والموجودة في النهاية النتروجينية.

(2) المجاميع الكربوكسيلية التي تتبع الحامض الأميني الموجود في النهاية الكربوكسيلية.

(3) المجاميع القاعدية التي تتبع اللايسين، الهستيدين، والارجينين.

درجة الأس الهيدروجيني

تتأثر إذابة معظم البروتينات الكروية بدرجة الأس الهيدروجيني، فإذابة البيتا لاكتوكلوبيلين β- Lactoglobulin وهو أحد بروتينات الحليب بدرجات أس هيدروجيني مختلفة فتكون في اقل مستوى بالأس الهيدروجيني 5.2 - 5.3 بغض النظر عن تركيز محلول كلوريد الصوديوم، وتسمى درجة الأس الهيدروجيني التي تكون فيها البروتين ذو الإذابة القليلة بدرجة الشحنات المتعادلة Isoelectric point باعتبار أن البروتين لا يحمل أية شحنة بهذا الاس، حيث يحصل تصادم الكتروستاتيكي بين جزيئات البروتين، ولذا تتجة نحو التركيد إما في درجة الأس الهيدروجيني الأكبر أو الأقل من هذه الدرجة فتبدأ البروتينات بامتلاك شحنة متشابهة فتتصادم هذه الجزيئات لتكون تجمعات غير ذائبة.

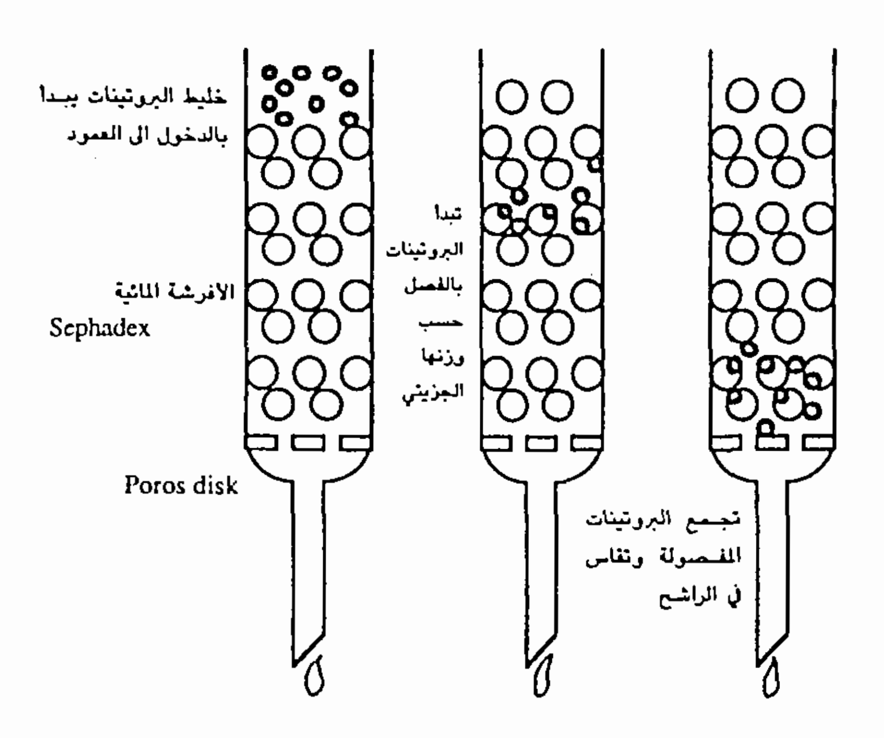
فعلى هذا الأساس يمكن فصل البروتينات المختلفة نظراً لتباين درجات الأس الهيدروجيني متعادل الشحنة لها، نظراً لتباين تركيبها البنائي .

التجزئة بواسطة المذيب

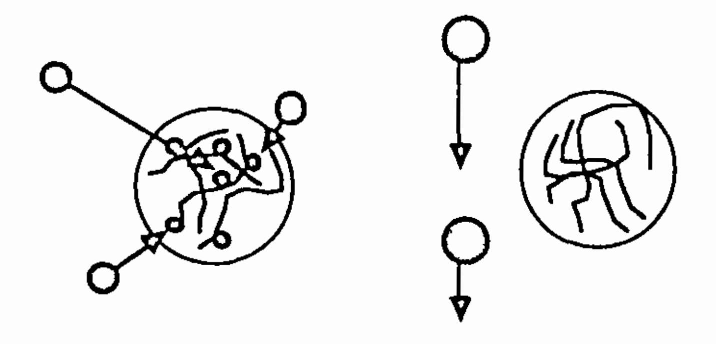
تقل إذابة معظم البروتينات الكروية في الماء وربما تترسب عند إضافة المذيبات العضوية المتعادلة مثل الايثانول والاستون، وتوضح الدراسات أن إذابة البروتين في درجة أس هيدروجيني ثابتة وقوة أيونية، تجعل الماء يقوم بمعارضة الجذب الالكتروستاتيكي بين الايونات الموجبة .

تترسب البروتينات في محاليلها بالمذيبات مثل المثانول والايثانول والاسيتون، ويتأثر ذوبان البروتين بالأملاح المتعادلة ودرجات الحرارة.

الشكل (7 - 12)



فصل نوعين من البروتينات ذات الأحجام المختلفة بعمود السفيدكس



تكبير عملية الطرد الجزيئي

أ ـ الترحيل الكهربائي :

فصل البروتينات في أس هيدروجيني ثابت

يتم فصل البروتينات في محلول دارىء بأس هيدروجيني ثابت وقوة أيونية ثابتة، ففي الشكل (7 - 14) الذي يوضح إتمام عملية الفصل بأس هيدروجيني 9، يحمل البروتين شحنة مقدارها (-3) و(-1) للبروتين A، تتحرك هذه البروتينات بسرع مختلفة تعتمد فيها الحركة على مقدار الشحنة ويكون البروتين A أسبق من البروتين B .

توضع هذه البروتينات ذات الشحنة السالبة في موقع القطب السالب وتتحرك عند تسليط مجال كهربائي نحو القطب الموجب. يكون البروتين أكثر ارتباطا نحو القطب الموجب وأسرع حركة لانه يحمل شحنة سالبة أكبر من البروتين B وبالتالي فقد تم فصل هذين البروتينين.

يفترض أن لكل من البروتين A و B نفس الحجم الجزيئي، وكذلك الشكل الجزيئي أي أن فصلهما اعتمد بالدرجة الرئيسية على مقدار الشحنة، هذا من الناحية النظرية، أما من الناحية العملية فهما يختلفان بالشكل والحجم الجزيئي، وعليه فإن الترحيل الكهربائي يعتمد على :

1 ـ الشحنة.

2 ـ الحجم الجزيئي.

3 ـ الشكل الجزيئي.

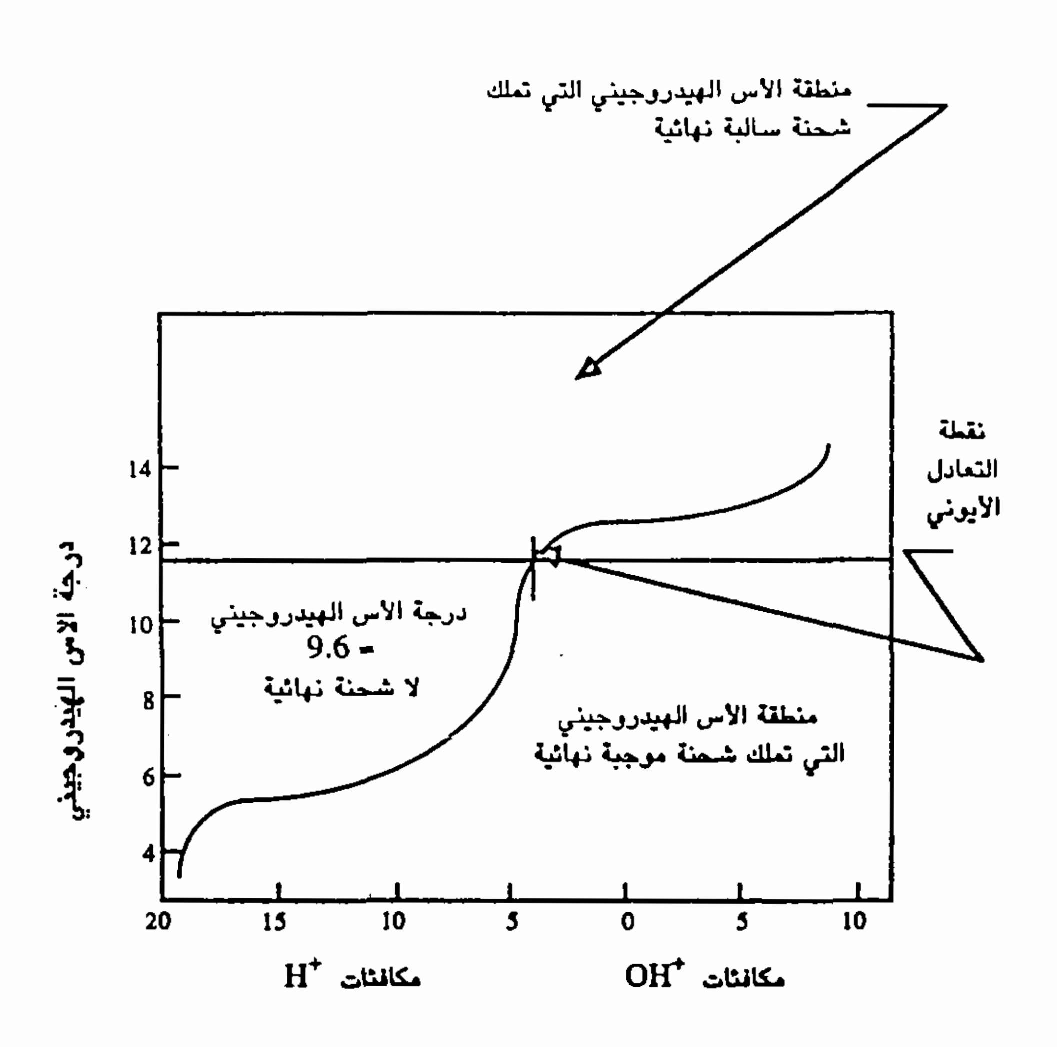
الشكل (7 - 13)

منحنى التسحيح للـ Ribonuclease

يبدأ التسحيح من نقطة التعادل الايوني (pI)

ويتجه نحو الجهة اليسرى بإضافة الحامض

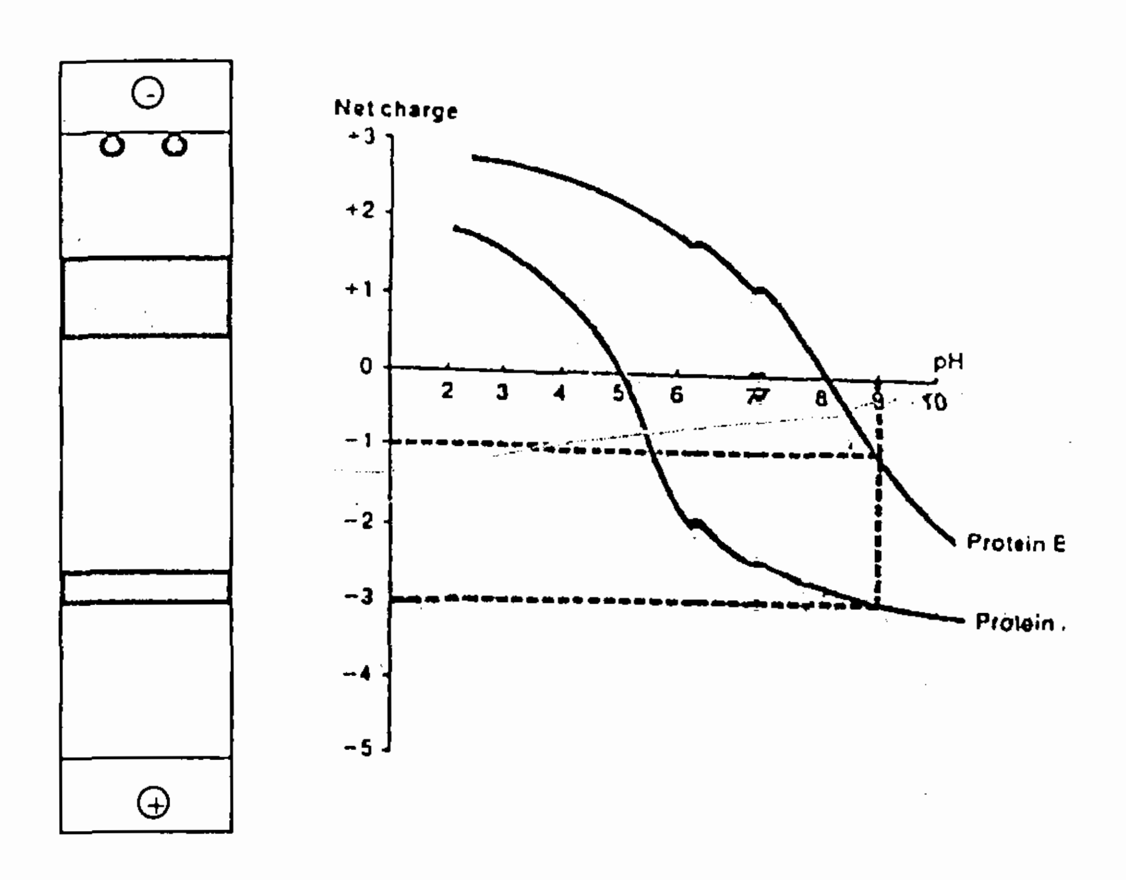
أو إلى الجهة اليمنى بإضافة القاعدة



الشكل (7 - 14)

الترحيل الكهربائي - أس هيدروجيني ثابت.

Electrophoresis- constant pH



عندما يتعرض خليط من البروتينات لتيار كهربائي، فإنها تتحرك في هذا المجال بسرع مختلفة اعتماداً على كثافة الشحنة التي تحملها هذه البروتينات، فمثلاً يمكن فصل خمسة أجزاء بروتينية إذا إستعملنا المصل الدموي وهي الألبومين، وأربعة

اجـزاء كَلوببلينية تسمى الفا1 ، الفـا2 ، بيـتـا وكَامـا. ويسـتفاد من هذه الطريقة في تشـخـيص الكثير من الأمـراض التي يتـغير نمـوذج بروتيناتها عن النموذج الطبيعي، فمثلا في مرض السكر يوجد نقص في تركيز الالبومين مع زيادة في الكلولوبيلين 2، كما تتميز حالة التليف الكبدي بانخفاض في الالبومين مع ارتفاع في الكاماكلوبين .

وهناك أنواع مختلفـة من الهجـرة الكهربائية والتي تسمى بالهجرة الايونية Iono-phoresis يسـتـفاد منها كما ذكرنا في فصل خليط من البروتينات. وأول من طور هذا الجهاز هو Tiselius في عام 1930، حـيث أوضح أن حركة الجزيئات μ (السنتمترات المربعـة/ الفولت ـ ثانية للجزيئة في المجال الكهربائي) يساوي سرعة الهجرة (سنتمتر / ثانية) مقسومة على قوة المجال الكهربائي (E) (فولت / السنتمتر).

$$\mu = \frac{V}{E}$$

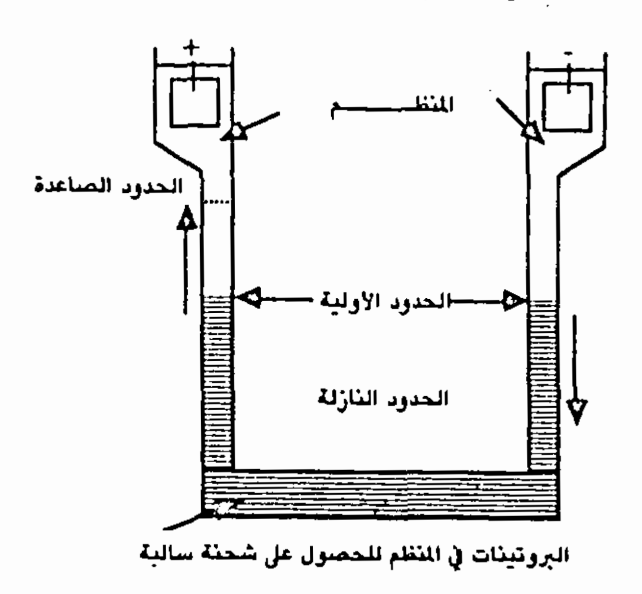
لذا تتـحـرك البروتينات ببطء أكبر من الايونات الصـغيرة في المجالات الكهربائية، فـفي الترحـيل الكهـربائي يوضع المحلول المنظم للبروتين في الخليـة (الشكل 7 - 15) وتوضع الخليـة بعـد ذلك في حمام مائي بدرجة حرارة ثابتة، ويتولد التيار الكهربائي بين الاقطاب ويختـار الدارىء الذي يعطي شـحنة سالبة للبروتينات لكي يتحرك نحو القطب الموجب مشكلاً جبهة أو حدوداً boundary فيتغير (معامل الانكسار refractive index للمـحلول بصـورة حـادة في منطقة الحدود، وعند قياس هذه التغيرات بصورة ضوئية على طول خلية الترحيل الكهربائية نحصل على نموذج شليرن Schileren pat-tern والذي يوضح اتجاه ومعدل سرعة الهجرة للبروتينات الأساسية في الخليط.

الشكل (7 - 15)

الهجرة الكهربائية الحرة

رسم تخطيطي للهجرة الكهربائية من نوع Tiselus

باستعمال الحدود المتحركة من جهاز الهجرة الكهربائية



الترحيل الكهربائي الموقعي Zone electrophoresis

تستعمل ورقة الترشيح وخلات السللوز كمساند للفصل باعتبارها مواد خاملة لا تتفاعل مع المواد التي يتم فصلها مثل البروتينات. تنفصل البروتينات إلى مواقع محددة يتم حسابها وذلك باستعمال صفات خاصة، ومن حساب شبه التصبغ يمكن قياس كثافة هذه المواد بمقياس الكثافة الضوئية Densitometer (الشكل 7 - 16) .

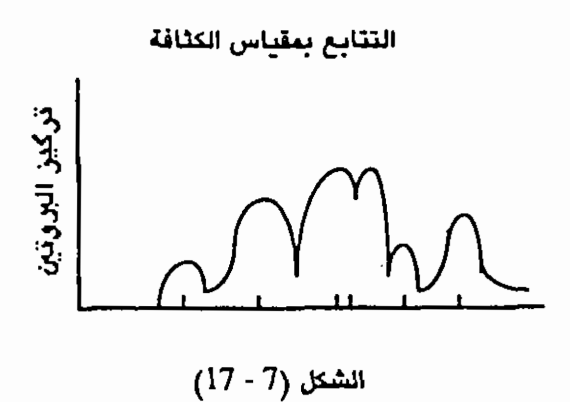
وتستعمل هذه الطريقة في كثير من المستشفيات لفصل البروتينات الرئيسية في الدم (الشكل 7 - 17).

الشكل (7 - 16)

الهجرة الكهربائية الموقعية على خلات السللوز وبعد عملية الصبغ يمكن أن تتم علية الفحص معطية قممًا بروتينية

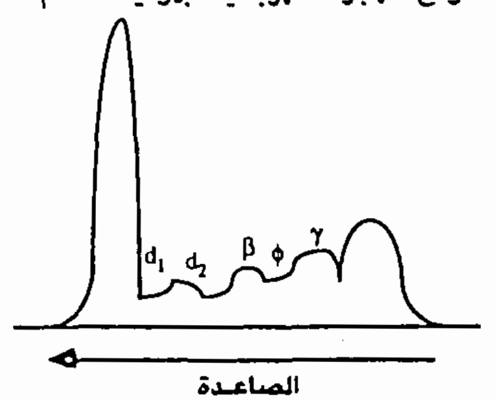
الشريط المصبوغ بعد الهجرة الكهربائية

التتابع بمقياس الكثافة



الشكل (7 - 17)

نموذج للهجرة الكهربائية لبروتينات الدم



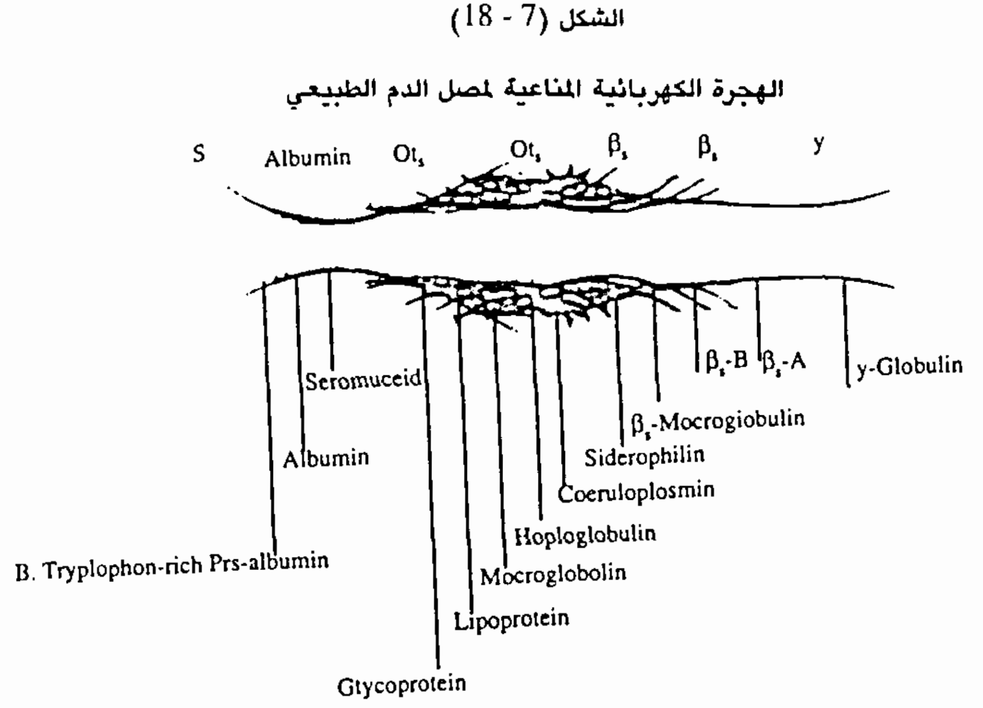
الالبومين	=	A	بيتا كَلوبيلين	=	β
الفا1 كَلوبيلين	=	α 1	فايبرنوجين	=	ϕ
الفا2 كَلوبيلين	=	α 2	كَاماكَلوبيلين	=	γ

الترحيل الكهربائي المناعي :

وهي من الطرق الحساسة جداً لقياس أنواع البروتينات في المواد الحياتية، فعند زرق مصل الدم (الانتجين) لحيوان ما في نوع آخر من الحيوانات تتكون بروتينات (مضادات الأجسام antibodies) تتمكن الاخيرة من أن تتفاعل مع كل نوع من الانتيجنات الموجودة في مصل الدم، ويتكون نتيجة هذه التفاعلات ترسبات للمركبات المعقدة (انتيجين ـ مضاد الجسم) Antigen antibody complex وبأداء التيار الكهربائي تتكون أقواس متعددة تمثل أنواعاً مختلفة من البروتينات المراد كشفها (انظر الشكل 7 - 18).

الشكل (7 - 18)

الهجرة الكهربائية المناعية لمصل الدم الطبيعي

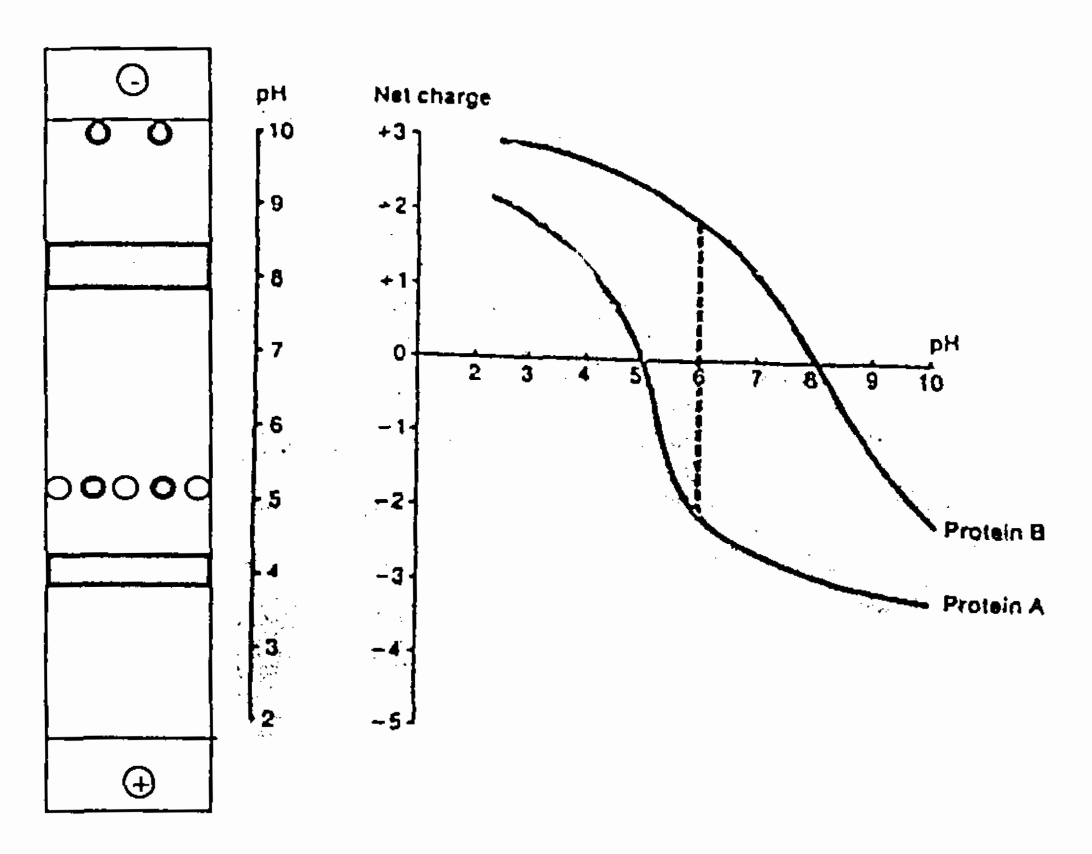


ب ـ التبئير الكهربائي (الترحيل الكهربائي في متدرج الأس الهيدروجيني)

من الشكل (7 - 19) يحمل البروتين A عند الأس الهيدروجيني 9، محصلة شحنة -3 ، أما البروتين B فيحمل محصلة شحنة -1، فعند وضع البروتينات A وB، (A+ B) في قمة هلام الاكسريلامايد المتعدد وإمرار مجال كهربائي، يبدأ كل من A وB بالحركة نحو القطب ذي الشحنة المعاكسة (الموجب (+) الانود).

فلو فرضنا أن البروتين A وB لهما نفس الوزن الجزيئي والشحنة، فالحركة عندئذ تعود إلى محصلة الشحنة النهائية.

أما التبئير الكهربائي فهو مشابه للترحيل الكهربائي حيث تستعمل قوة كهربائية للفصل إلا أنه يختلف عن الترحيل الكهربائي بكونه يعتمد في الفصل على تدرج بالأس الهيدروجيني، حيث تتركز البروتينات بشكل بؤرة في منطقة الأس الهيدروجيني المساوية لنقطة تعادل الشحنة، فالبروتين A ذو نقطة تعادل الشحنة 8- يتركز بشكل بؤرة عند هذا الأس الهيدروجيني، وكذلك بالنسبة للبروتين B الذي يكون بؤرة عند الأس الهيدروجيني 5.



الشكل (7 - 19) التبئير الكهربائي

التبئير الكهربائي ـ تدرج الأس الهيدروجيني

Electrofocusing - pH gradient

(3) فصل البروتينات بالامدصاص الاختياري

Seperation of proteins by selective adsorption

تمدص البروتينات وتتضح بطريقة اختيارية من الأعمدة المملوءة بمواد خاملة مجزاة بصورة دقيقة وذات مساحة كبيرة وتشمل هذه المواد غير القطبية : الفحم "Charcoal"، وكذلك المواد القطبية من هلام السليكا "Silica gel" . ويعتقد أن قوى فان درفال والتصادمات الهيدروفوبية Hydrophobic هي المسؤولة عن امدصاص البروتينات مع المواد غير القطبية، أما المواد القطبية فتتأثر بعوامل أخرى حين امدصاصها للبروتين منها الانجذاب الأيوني والآصرة الهيدروجينية، ويعتبر الهيدروكسي ابيتايت Hydroxy appetite أكثر المواد استعمالاً لتقنية البروتينات عن طريق اتصال الشحنة السالبة الموجودة في البروتينات مع الكالسيوم الذي يشكل جزءا من هذه المواد.

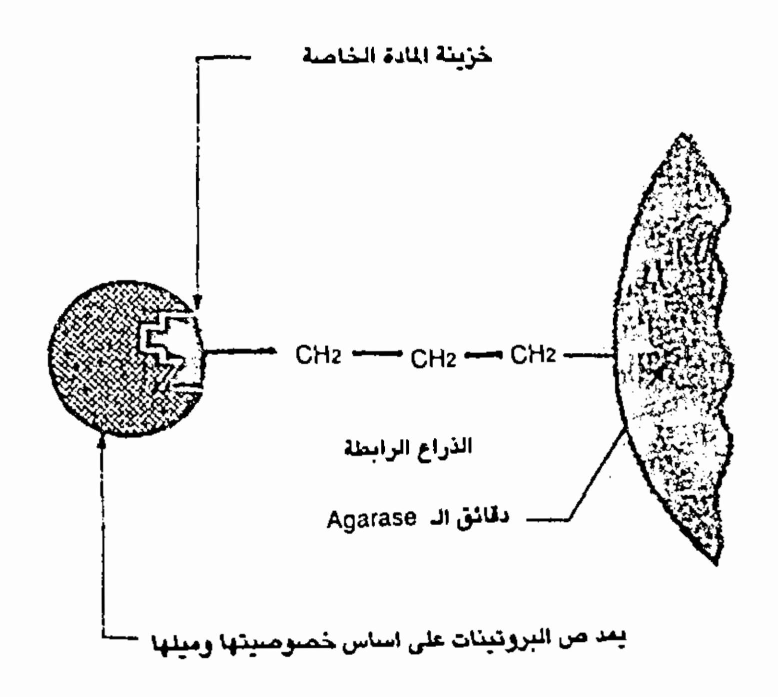
(4) طرق الفصل التي تعتمد على خصوصية أُلفة المواد المختلفة، الكرموتوغرافية

Separation Based on ligand specificity Affinity Chromotography

تعتمد هذه الطريقة على الصفة الحياتية للبروتينات، وبالأخص إمكانيتها على الارتباط بواسطة الربط غير التساهمي non cofalent مع (مواد مختلفة ligands) وأحسن مثال على ذلك أن بعض الإنزيمات ترتبط مع إنزيماتها المساعدة بصورة قوية من خلال القوى غير التساهمية ومن أجل فصل البروتينات عن بعضها بهذه الطريقة يستعدل الإنزيم المساعد الخاص بهذا البروتين مرتبطاً بصورة تساهمية بطرق كيميانية (انظر الشكل 7 20) :

الشكل (7 - 20)

المبادىء الرئيسية للكروموتوغرافيا الالفة



(5) كروموتوغرافيا التبادل الأيوني Ion- exchange chromoto graphy

وهي الطريقة الثانية للفصل والتي تعتمد على التصرف الحامضي والقاعدي للبروتينات على نفس الأسس المستعملة لفصل الاحماض الامينية التي ذكرت سابقاً. ومن أكثر المواد المستعملة في الكروموتوغرافيا لفصل البروتينات تلك التي تصنع كمشتقات سللوزية مثل ثنائي الامينو ايثل سللوز (Diaminoethyl Cellulose DEAE) والتي تحمل مجاميع ذات شحنة موجبة في درجة الاس الهيدروجيني 7.0 .

$$\begin{matrix} CH_3CH_2 \searrow & \\ & {}^{+}NH\ CH_2\ CH_2 — O — (\text{الدقائق السللوزية}) \\ CH_3CH_2 \nearrow & \end{matrix}$$

وتعتبر من المتبادلات الأيونية سالبة الكاربوكسي مثيل سللوز (CM- Cellulose Carboxymethyl cellulose)، أما الكاربوكسي مثيل سيللوز فهي ذات تبادل ايوني موجب لانها تعطي شحنات سالبة في درجات الأس الهيدروجيني المتعادلة. ويمكن فصل الخليط البروتيني الى مكونات فردية يمكن تنسحبا بعدة أنواع من المنظمات ذات الأس الهيدروجيني بنقصان متسلسل أو سلسلة من المحاليل الملحية ذات الزيادة في القوة الأيونية.

قياس الوزن الجزيئي للبروتين من محتواه

Molecular Weight from composition

يعتمد حساب الوزن الجزيئي للبروتين بهذه الطريقة على قياس محتواه من الحامض الأميني أو المجموعة المرتبطة، وذلك بالاستناد على حقيقة بسيطة وهي أن هناك على الأقل 1 مول من أي مكون في كل مول من البروتين وربما هناك أكثر من مول لكل مكون وعليه، فإن هذه الطريقة تعطي ما يسمى بالوزن الجزيئي الأقل (minimum molecular weight).

فمثلا يحتوي الهيموغلوبين على 0.335% من الحديد وزناً، وبالتالي يمكن قياس الوزن الجزيئي وفق ما يلي:

هناك على الأقل ذرة حديدة واحدة في كل جزيئة من الهيموغلوبين، وأن ذرة غرام من الحديد تزن 55.85 غم. لذا فأن الوزن الجزيئي الأقل للهيموغلوبين هو عبارة عن الوزن الذي يحتوي على 55.85 غم من الحديد، أو يمكن القول أن 55.85 غم يمثل 0.335% من الوزن الجزيئي الأقل .

$$\frac{100 \text{ غم}}{0.335 \text{ غم حديد}} = \frac{\text{الوزن الجزيئي الأقل (MW min.)}}{55.85 \text{ غم حديد}}$$

$$\text{الوزن الجزيئي الأقل} = \frac{55.85 \times 100}{0.335}$$

وبصورة عامة :

$$\text{فالوزن الجزيئي الأقل} = \frac{\text{الوزن الجزيئي للمكون} \times 100}{\text{النسبة المئوية للمكون}}$$

$$MWmin = \frac{MWconstituent \times 100}{\%\ constituent.}$$

مثـــال :

وجـد أن أحـد البروتينات يحتـوي على 58.1 مـايكروغـرام من الليوسـين (الوزن الجزيئى 131.2) و 36.2 مايكروغرام من التربتوفان (الوزن الجزيئي 204.2) ، ما هو الوزن الجزيئي الاقل؟.

يمكن حـســاب الوزن الجزيئي الاقل للبروتين بالاعتماد على محتواه من الليوسـين ووفق ما يلي :

$$\frac{10^{-3}_{g}\ protein}{58.1 \times 10^{-6} g\ leucine} = \frac{MW}{131.2} = 22580$$

$$\frac{10^{-3}\ \text{غم بروتين}}{58.1 \times 10^{-6}\ \text{غم ليوسين}} = \frac{\text{الوزن الجزيئي}}{131.2}$$

الوزن الجزيئي الأقل = 22580

يعتمد الوزن الجزيئي الأقل على محتواه من التربتوفان :

$$\frac{\text{الوزن الجزيئي}}{204.2} = \frac{10^{-3}\ \text{غم بروتين}}{36.2 \times 10^{-6}\ \text{غم تربتوفان}}$$

الوزن الجزيئي الأقل = 5641

ويتضح من الحسابات أن النسبة الوزنية الغرامية :

$$\text{للـ}\ \frac{\text{ليوسين}}{\text{تربتوفان}} = \frac{131.2 \div 58.1}{204.2 \div 36.2} = \frac{2.5}{1}$$

وعليه، فإن الوزن الجزيئي الأقل الحقيقي عبارة عن وزن 5 غرام من الليوسين و 2 غم من التربتوفان

$$11.290 = 2258 \times 5$$

$$11.2820 = 5641 \times 2$$

حساب الوزن الجزيئي بطريقة الترشيح الهلامي :

يتميز الترشيح الهلامي بكونه غربالاً جزيئياً يستعمل لتجزئة الجزيئات وفق حجمها، وأن وسط الغربال عبارة عن هلام ذي ثقوب أو مسامات كالسيفاديكس (sephadex) التي هي دكسترات مرتبطة عرضياً وكذلك البايوجل (Biogel) الذي هو عبارة عن اكريلامايد متعدد (Polyacrylamide) .

أما ثقوب هذه الهلامات فتكون بشكل كرات ذات أقطار محددة، فالجزيئات التي تكون أصغر من الثقوب تنفذ بصورة حرة في دقائق الهلام والجزيئات التي تكون اقطارها اكبر من الثقب نفسه، فتطرد من الهلام وتمر الجزيئات ذات الحجم الوسط في بعض دقائق الهلام (الشكل 7 - 21) والشكل (7 - 22).

توضع كمية صغيرة من المحلول تحتوي على جزيئات ذات أحجام مختلفة على العمود الذي يحتوي على الهلام ويغسل المحلول باستعمال دارئ مناسب.

مجموع حجم السائل الكلي للعمود = حجم السائل خارج دقائق الهلام (V_0) + حجم السائل داخل دقائق الهلام (V_i)
(total liquid)

$$(V\text{total liquid} = V_0 + V_i)$$

فالجزيئات الكبيرة جداً التي تحمل Vo، ولكي تمر تشطف من العمود أولاً، بعدها الجزيئات ذات الحجم الوسطي ، أما الجزيئات الصغيرة جداً فتعبر آخر المواد.

فالجزيئات الكبيرة جداً والتي تملك Vo فقط تمر خلال العمود أولاً، أما الجزيئات ذات الحجم الوسطي فتشطف ثانياً، والجزيئات الصغيرة جداً تمر خلال (Vo + Vi)حيث تشطف وأخيراً. وتعتبر طريقة الترشيح الهلامي الطريقة الملائمة لتقدير الوزن الجزيئي للبروتين.

مثـــال :

من أجل مـعـرفة ترتيب نزول خليط من المركبات وضعت على عمود يحتوي على الهلام الذي يطرد البروتينات ذات الأوزان الجـزيئيـة 200.000 فاكبر، والسـايتوكوزم (الوزن الجزيئي 13.000)، والبروتين ذا الوزن الجزيئي 117.000، والبروتين ذا الوزن الجزيئي 96.000، والـبروتـين ذا الـوزن الجـزيئي 440.000 والكلوكـوز، واكـسيديز (البروتين ذا الوزن الجزيئي 154.000 والبروتين ذا الوزن الجزيئي 300.000).

تشطف البروتينات بترتيب من الاعلى وزناً إلى الأقل، فالبروتين ذو الوزن الجزيئي 440.000، والبروتين ذو الوزن الجـزيئي 300.000 يطردان كليـهما، وبالتالي لا يمكن فصلهما عن بعضـهما .

ويشطفان بحجم يساوي V_0 اما الترتيب لبقية البروتينات فيتم وفق ما يلي:

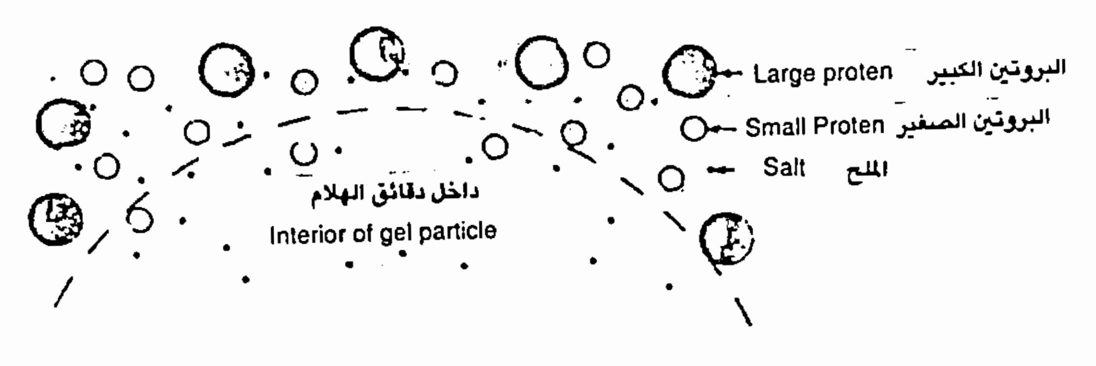
(1) البروتين ذو الوزن الجزيئي 440.000 + البروتين ذو الوزن الجزيئي 330.000.

(2) البروتين ذو الوزن الجزيئي 154.000 .

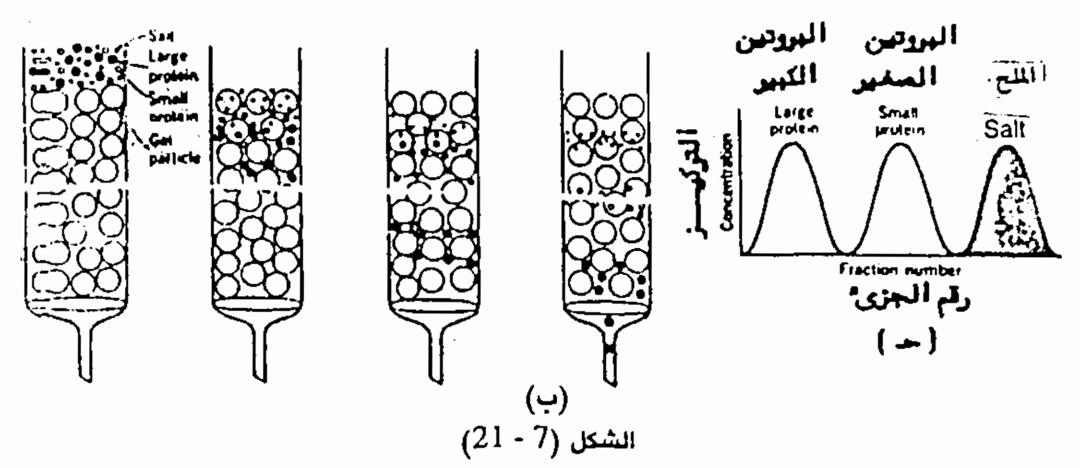
(3) البروتين ذو الوزن الجزيئي 117.000.

(4) البروتين ذو الوزن الجزيئي 96.000.

(5) البروتين ذو الوزن الجزيئي 13.000.



(أ)



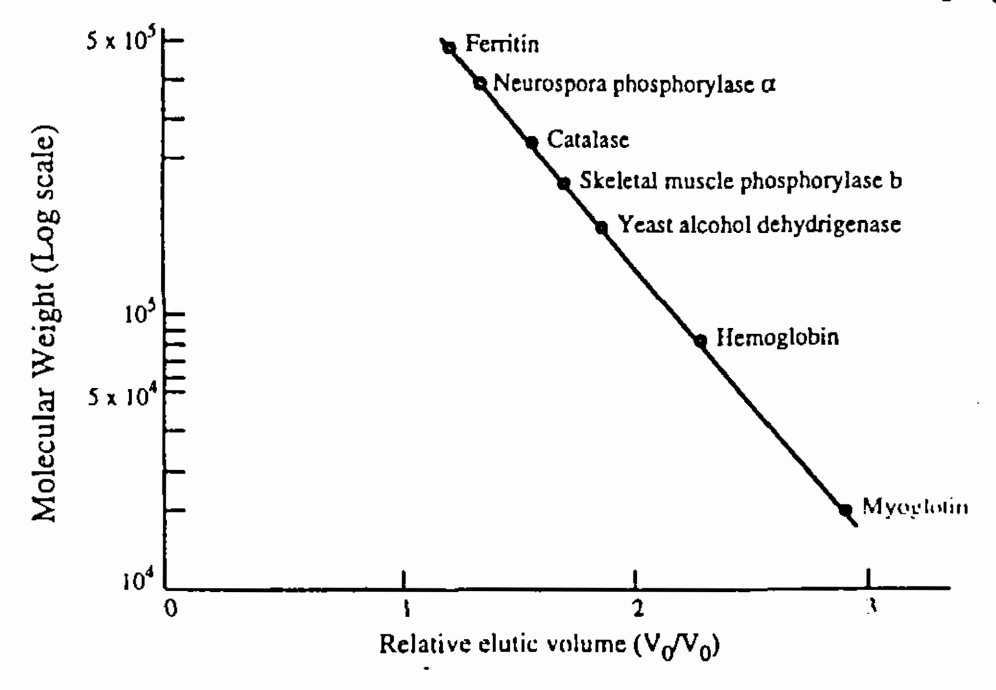
الشكل (7 - 21)

(ا) توضيحات تخطيطية كثقوب دقيقة الهلام .

(ب) الفصل لثلاثة انواع من الجزيئات ذات الأحجام المختلفة.

(ج) نموذج الشطف.

عن Biochemical calculation Segal



الشكل (7 - 22)

احتساب الأوزان الجزيئية لبعض البورتينات القياسية باستعمال السفاديكس من النوع G—200 ويمثل Vo/Ve حجم الشطف لبروتين معين نسبة حجم الشطف لجزيئة كبيرة تطرد كلياً من البروتين. عن Biochemical calculation Segal.

الجدول (7 - 3)

نوع الهلام	مدى التجزئة (Fractionation range) وحدات الوزن الجزيئي
أ ـ السيفادكس (الدكستران المرتبط عرضياً)	
G—10	0—700
G—15	0—1.500
G—25	1.000—5.000
G—50	1.500—30.000
G—70	3.000—80.000
G—100	4.000—150.000
G—150	5.000—300.000
G—200	5.000—600.000
ب ـ الاكريلامايد المرتبط عرضياً	
S—200	5.000—250.000
S—300	10.000—1.500.000
S—400	10.000—2.000.000
S—500	4.000—20.000.000
S—1000	500.000—100.000.000
ج ـ الاكاروز	
2B	70.000—40.000.000
4B	60.000—20.000.000
6B	10.000—4.000.000

الوزن الجزيئي بطريقة الضغط الازموزي :

عندما يفصل المحلول عن المذيب النقي بواسطة الغشاء النافذ للمذيب وليس إلى المذاب، تتحرك جزيئات المذيب خلال الغشاء إلى المحلول، ويسمى الضغط الذي يجب استعماله لمنع مرور جزيئات المذيب بالضغط الازموزي (π). ويعتمد هذا الضغط على

تركيز المذاب ودرجة حرارة المحلول وأن العلاقة تشبه تلك المستعملة للغازات :

$$\pi V = nRT$$

π الضغط الازموزي ويقدر بالجو (atm).

V = حجم المحلول بالالتار (Liters).

n = عدد مولات المذاب .

R = ثابت الغاز (0.0821 لتر / جو/ مول K^0) (0.0821 Liter- atm / mole - K^0)

T = درجة الحرارة المطلقة

$$\pi = \frac{n}{V} RT$$

$$\pi = M\ R\ T$$

M = مولارتي للمحلول

ويمكن قياس الوزن الجزيئي للمذاب (البروتين) من قياس الضغط الازموزى π.

$$\pi V = \frac{Wtg}{MW} RT$$

يعتقد ان المحاليل المخففة جداً، حيث لا يحصل أي التحامات بين دقائقها أو بين الدقائق والمذيب، تستعمل العلاقة التالية :

$$\pi V = nRT$$

لذا، فالمحاليل المركزة نسبياً يمكن استعمالها للحصول على قياسات جيدة للـ π وعادة، فقيمة π التي يتم قياسها يجب تصحيحها للحالة غير المثالية ويتم ذلك برسم العلاقة π/C (القوة الاسموزية الخاصة أو الناقصة)، ضد C، وبالتالي إسقاطه "extrapolating" إلى الصفر. ويمكن عندئذ قياس الوزن الجزيئي باستخدام المعادلة التالية :

$$MW = \frac{RT}{(\pi/C)\ C \longrightarrow 0}$$

مسالـــة :

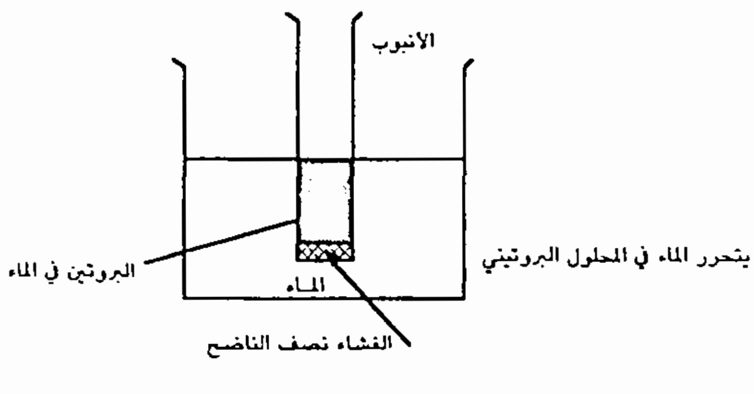
بدرجة حرارة 10 مئوية، يصبح الضغط الازموزى لمحلول بروتيني 3.05×10^{-3} جو $(3.05 \times 10^{-3}$ atm)، وبتركيز 4 ملغم/سم3 و 1.40×10^{-3} جو بتركيز 2 مغم/سم3 احسب الوزن الجزيئي :

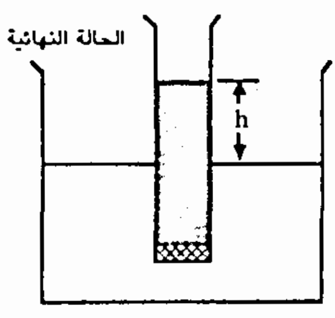
C	π	πII/C
7.625×10^{-4}	3.05×10^{-3}	4mg/ ml
7.00×10^{-4}	1.40×10^{-3}	2. mg/ ml
6.375×10^{-4}	—	at 0 mg/ ml

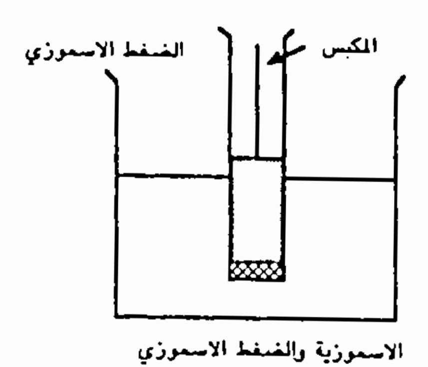
تقل قيمة π/C بـ 0.625×10^{-4} عند نقصان التركيز إلى 2mg/ml لذا فالمحلول المخفف بدرجة كبيرة جداً يصبح π / C 6.375×10^{-4} :

$$MW = \frac{RT}{(\pi/C)\ C \longrightarrow 0} = \frac{(0.0821)\ (283)}{6.375 \times 10^{-4}}$$

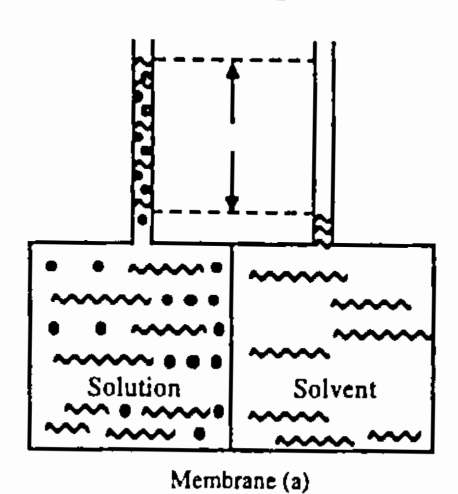
$MW = 36.446$

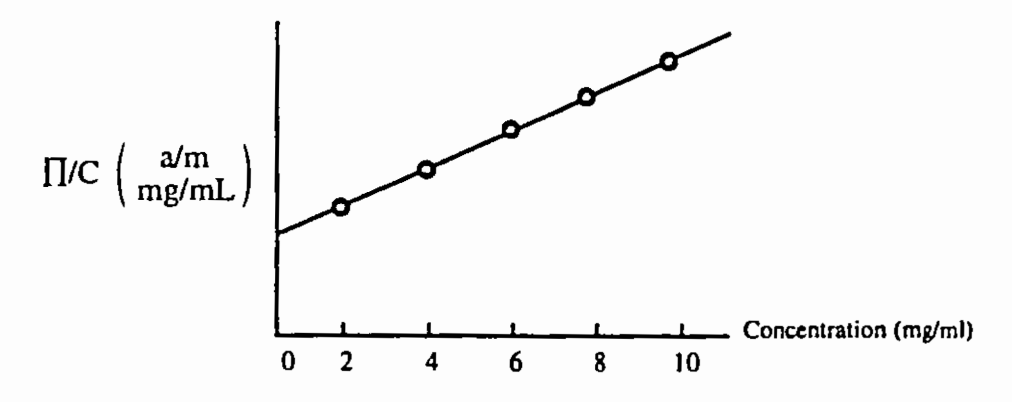






الشكل (7 - 23)

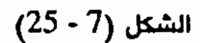


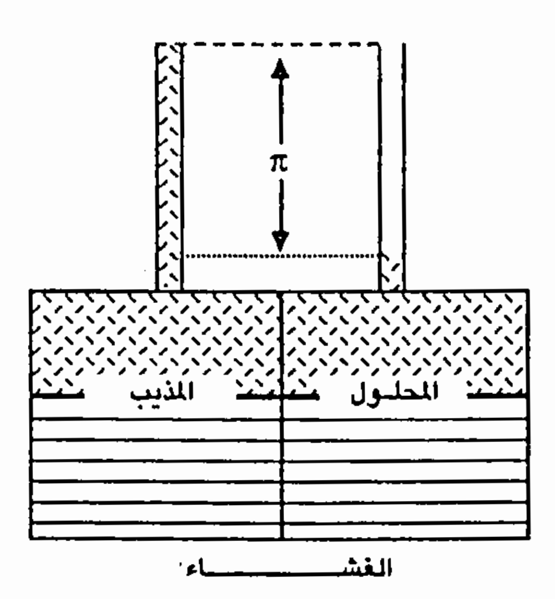


الشكل (7 - 24)

(a) (b) تصحيح الحالة غير المثالية للمحلول

عن Biochemical calculation Segal


الشكل (7 - 25)



قياس الوزن الجزيئي من سرعة التركيد

Molecular weight from sedimentation velocity

يمكن حساب الوزن الجزيئي للبروتين باستعمال النابذة ذات السرعة العالية Ultracentrifugation. وتعتمد على تركيد البروتينات ذات الأوزان العالية بصورة أسرع من ذات الأوزان الجزيئية الواطئة. وبها يمكن استعمال المعادلة التالية :

$$MW = \frac{RTs}{D\,(1\ \nabla ps)}$$

حيث بذلك يمكن قياس الوزن الجزيئي للبروتين والجزيئات العيانية الأخرى من دراسات السرعة الفائقة بالنبذ وفق المعادلة نفسها :

$$MW = \frac{RTs}{D\,(1 - \nabla ps)}$$

والتي يكون فيها :

R = ثابت الغاز (Gax constant) :

. ($8.314x\ 10^{7}$ ergas $mole^{-1}$ $degree^{-1}$)

T = درجة الحرارة المطلقة (K^o) (absolute temp).

D = معامل الانتشار (Diffusion coefficien) (cm^2/ sec).

= كمية المركب الذي ينتشر بالثانية خلال مساحة قدرها 1 سم2 (lcm^2) بوحدة تركيزية متدرجة (1 مول أكبر في أحد جانبي الغشاء).

$\overline{V}$ = الحجم التفاضلي للجزيئة العيانية (عكس الكثافة).

ps = كثافة المذيب (sedimentation coeffieient).

s = معامل التركيد (الترسيب).

عوامل سرعة التركيد

سرعة التركيد ـ الانتشار Sedimentation velocity- diffusion.

تتركد الجزيئات في محاليلها عند استعمال قوة النبذ centrifugal force وتعتمد سرعة التركيد على:

أ ـ صفات الجزيئات المترسبة وتتضمن :

1 ـ الحجم Size.

2 ـ الشكل shape .

3 ـ كثافة الجسم density.

ب ـ صفات المذيب ومنها:

1 ـ الكثافة.

2 ـ اللزوجة.

ج ـ القوة المستعملة في عملية النبذ.

أما الجزيئات المترسبة فهي على أنواع :

أ ـ الجزيئات الكبيرة : ويمكن تركيدها بقوة نبذ مركزية فائقة السرعة.

ب ـ لا تترسب الجزيئات الصغيرة بأجهزة النبذ المتوفرة في المختبرات.

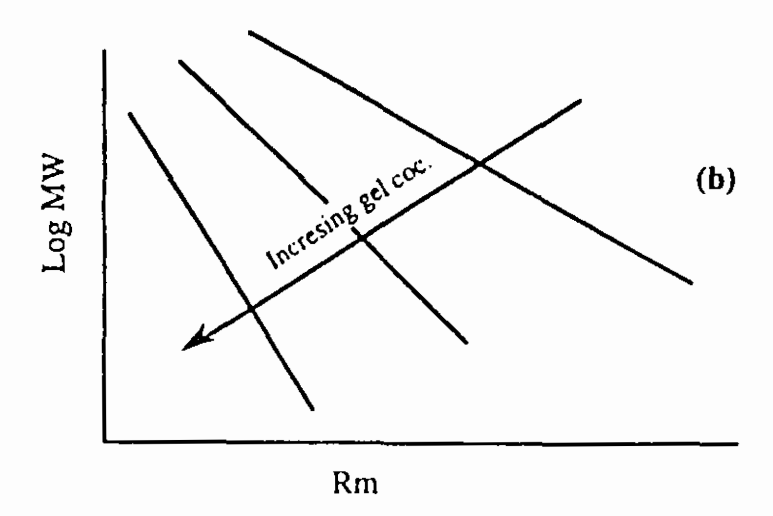
الوزن الجزيئي بطريقة الترحيل الكهربائي من النوع (SDS)

يؤثر الصوديوم ودودسيل سلفات (SDS Sodium dodecyl sulfate) وهو منظف انيوني على التركيب الرباعي للبروتينات ويفصلها إلى وحدات ثانوية، ويرتبط الـ SDS بالجزيئات بصورة قوية، وبالتالي يزيل الشحنة الأصلية الموجودة على البروتين .

يتجه البروتين SDS خلال عملية الترحيل الكهربائي إلى القطب الموجب بنسبة $\frac{\text{الشحنة}}{\text{الكتلة}}$ المتشابهة، وعندما يتم الترحيل الكهربائي على هلام الاكريلامايد المتعدد تعتمد حركة المعقد البروتين SDS بصورة محددة على حجمه، وبالتالي فالترحيل الكهربائي الهلامي باستعمال الـ SDS هو عبارة عن ترشيح هلامي بمجال هلامي كقوة دافعة.

يمكن تحضير منحني قياسي باستعمال بروتينات ذات أوزان جزيئية معروفة كوحداتها.

$+ CH_3(CH_2)_{10}CH_2OSO_3^-$



الشكل (7 - 26)

(a) تجـزئة التركـيب البنائي الرباعي بواسطة الـ SDS . يرتبط الأخير للوحـدات الإضـافية بصـورة قـوية مـزيلاً الشحنة الأصلية على البروتين، وبالتالي، فإن جميع المعقدات البروتين - SDS التي تتكون تحمل نفس النسبة وهي $\frac{\text{الشحنة}}{\text{الكتلة}}$.

المصـــــادر

(1) Lehninger Principles of Biochemistry worth Publishers, Inc. 1982 .

(2) Text Book of Biochemistry by West and Todd.

(3) Biochemical culculations 2nd edition Irwim H. Segal 1976.

(4) Text Book of Biochemistry with clinical correlations Thomas M. Devlin 1986.

(5) Physical Biochemistry, applications to Biochemistry and Molecular biology.

(6) Physical Biochemistry David Freifelder W.H. Freeman and Co.

(7) الكيـمـيـاء الحـيـاتية/تاليف الدكتور رياض رشيد سليمان/ الدكتور سامي عبد المهدي المظفر 1985.

(8) Biochemistry, Geoffrey Zubay, Macmillan Publishing Company, Second edition, 1988.

الفصل الثامن

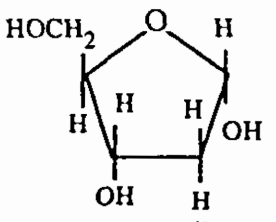
الأحماض النووية

8 - 1 تقديـــــم

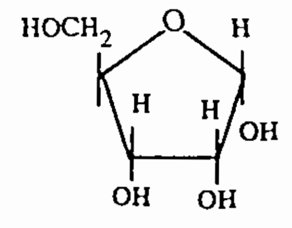
الأحماض النووية مـركبات ذات وحدات جزيئية متعددة تسمى بمقررات الكائنات الحـيـة الـوراثيـة، ولا تـتركـز هـذه الأحمـاض في الـنـواة فـقط بل توجـد أيضـاً في السـايتـوبلازم مـتحدة مع البروبينات مثل الهستون أو البروتينات مكونة البروتينات النووية.

تحـتوي الأحماض النووية بصورة تقريبية على 15 - 16% نتروجين و 9 - 10% فـوسـفـور، ويـولد التـحلل المائي الكامل للأحماض النووية خليطاً من البـيـوريـنات (Purines)، والبيريمدينات (Pyrimimdines)، والـسكريات [الرايبـوز (Ribose)]، أو الديوكسي رايبـوز (Deoxy ribose)، وحـامض الفـوسـفوريك، أما عند التحلل المائي الجزئي Partial hydrolysis فـمن الممكن الحـصول على النكليوتايدات Nucleotides والنكليـوسـايدات Nucleosides. ويـتكون كل نكليـوسـايد Nucleoside من القـاعدة النتروجـينيـة والسكر، أمـا النكليـوتايد فـيعطيٰ عند تحلله المائي القاعدة النتروجينية والسكر وحامض الفوسفوريك (انظر الشكل 8 - 1 و 8 - 2).

تقـسم الأحماض النووية بصـورة عـامة إلى نوعين : الأول يسمى د.ن.أ (Deoxy ribonucleic acid) DNA والمكون لنواة الخليـة، والثانى (Ribonucleic acid) (ر. ن. أ R N A) والذي يتـمركز بصورة رئيسية في سايتوبلازم الخلية. يتكون كل من هذين الحامضين ر. ن. أ (RNA) والـ د. ن. أ (DNA) من سلسلة طويلة من النكليوتايدات والديوكسي نكليـوتايدات والتي تتركب من السكر والفـوسـفـات اللاعـضـوي والقواعد النتروجينية. وبالنسبة إلى السكر (الرايبوز) الموجود في الـ ر. ن. أ (RNA) فهو شكل (D)، وســكر الـ د. ن. أ (DNA) شكل الديوكسي رايبـوز D- Deoxy ribose. وتعود تســمـية هذين الحامضين النوويين إلى نوع السكر الخماسي الموجود (انظر إلى أشكال Haworth) لأنواع السكر الموجودة في الأحماض النووية في الشكل (8 - 1).



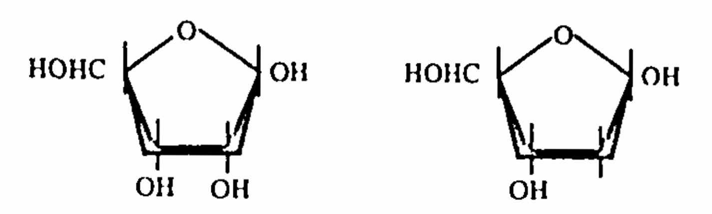
D - Deoxy ribose
الديوكسي رايبوز بشكل من نوع الفا الموجود في الـ (د. ن. أ) DNA فقط



D - ribose
الرايبوز بشكلD من نوع الفا الموجود في الـ ر.ن.أ DNA فقط

الشكل (8 - 1)

اشكال هورات Haworth لانواع السكر الموجودة في الاحماض النووية



استناداً إلى ما ذكرناه، يطلق على الوحدات أحادية الجزيئة للأحماض النووية [(ر.ن. أ حامض الرايبونكليك R ibonucleic acid) و (د. ن. أ حامض الديوكسي رايبونكليك Deoxyribonucleic acid)] : النكليوتايدات، والديوكسي نكليوتيدات بالتعاقب، حيث تتكون من القاعدة البيورينية أو البير يمدينية والسكر الخماسي (الرايبوز أو الديوكسي رايبوز) والفوسفات المتصلة بالنهاية 5 للسكر.

وعند اتصال القاعدة النتروجينية عن طريق الآصرة الكلايكوسيدية إلى الموقع رقم (1) للرايبوز أو الديوكسي رايبونكليوسايد يتكون الرايبونكليوسايد والديوكسي رايبو نكليوسايد وبالتعاقب.

8 - 2 القواعد النتروجينية

توجد القواعد النتروجينية الرئيسية التالية في معظم جزيئات الأحماض النووية (الـ د. ن. أ. والـ ر. ن. أ) وهي :

1 - الثايمين.

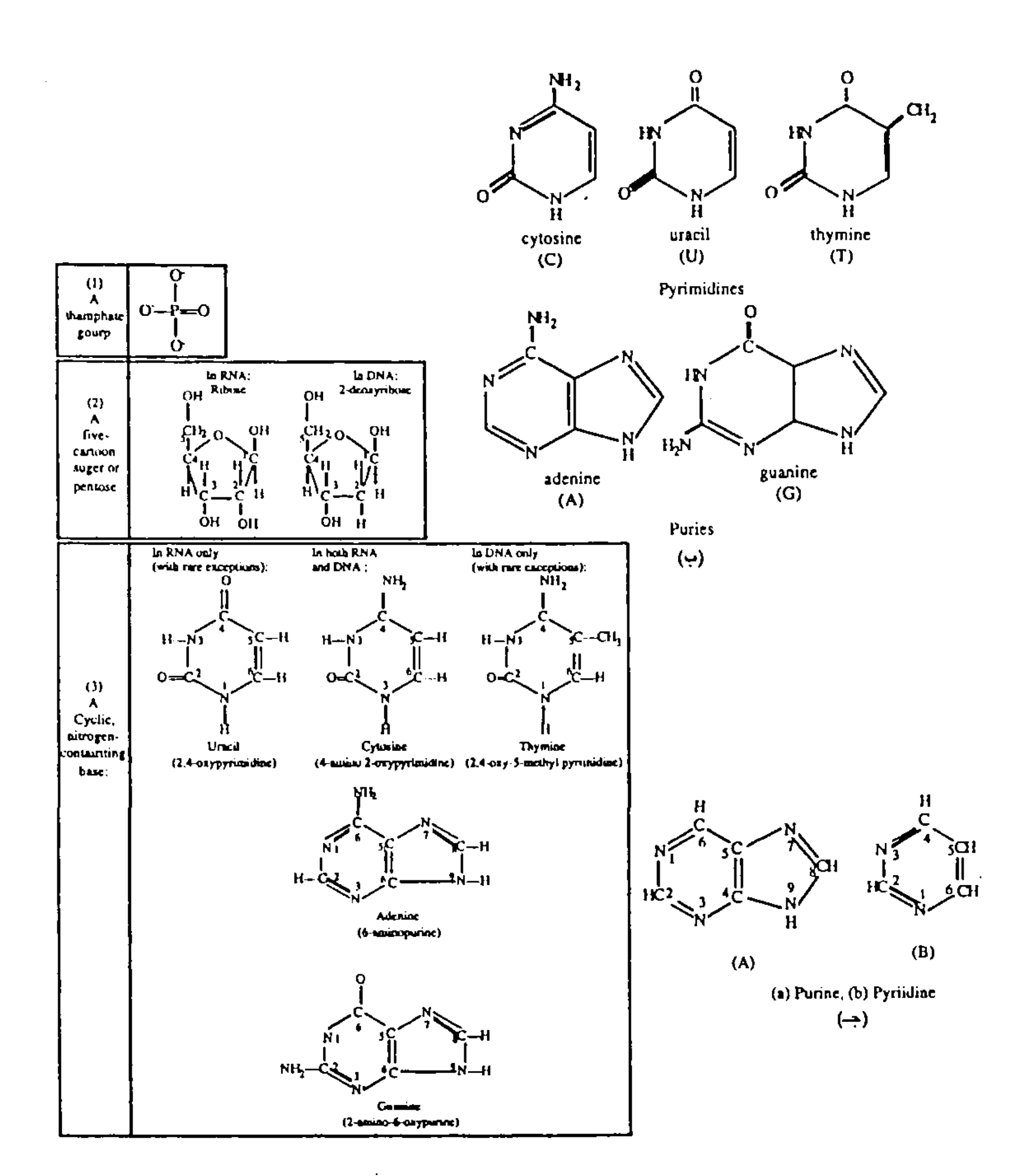
2 - اليوراسل.

3 - الكوانين.

4 - السايتوسين.

5 - الادينين.

حيث يحتوي الـ ر. ن. أ على الادينين والكوانين كقواعد بيورينية، والسايتوسين واليوراسل كقواعد بيريمدينية، أما في الـ د. ن. أ فيوجد الثايمين عوضاً عن اليوراسل.



الشكل (2.8)

التراكيب البنائية لمكونات الاحماض النووية

1 ـ الفوسفات

ب ـ الرايبوز ـ الديوكسي رايبوز

ج ـ القواعد النتروجينية

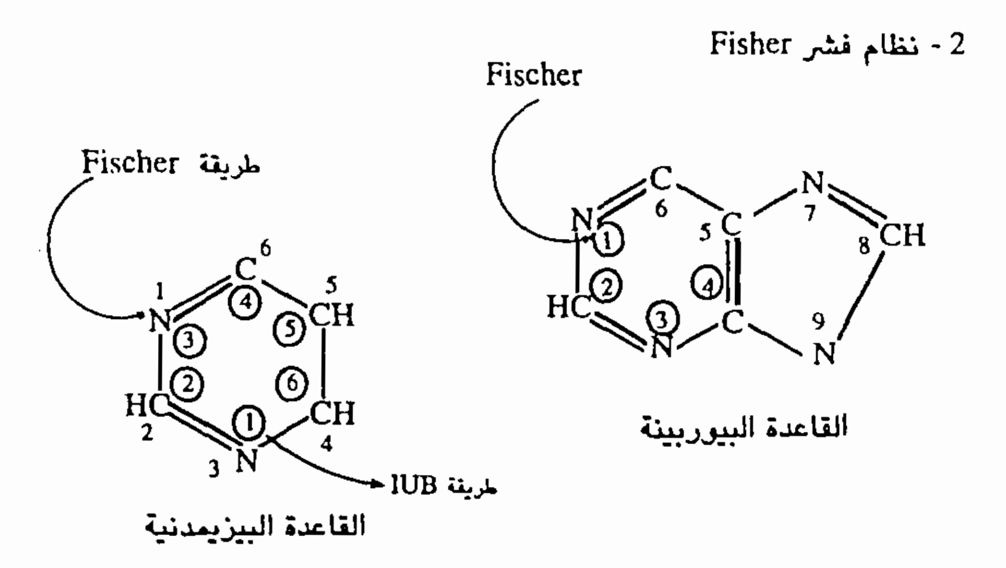
وتوجـد القواعد الرئيسية المذكورة في الشكل (2.8) في مـعظم جزيئات الـ د. ن. أ DNA والــــ ر. ن. أ RNA وتشكل اســاســاً للدراســة، حـيث يحتوي الـ ر.ن.أ على الادينين والكوانين كـقـواعـد بيورينية، والسايتوسن واليوراسل كقواعد بيريمدينية. أما في الـ د. ن. أ DNA فعوضاً عن اليوراسل يوجد الثايمين، إضافة إلى ذلك فهناك في الـ د.ن.أ DNA كمية صـغيرة من القاعدة (5 ـ ميثيل سايتوسن) (5- Methyl Cytosine).

وترقم هذه القواعد حسب الرسوم التالية بطريقتين :

1 - نظام (نظام الاتحاد العالمي للكيمياء الحياتية)

(Internal Union of Biochemistry) IUB

2 - نظام فشر Fisher



القاعدة البيريمدنية

القاعدة البيوريينة

القواعد النتروجينية البيورينية Purine Bases

يحتوي البيورين (Purine) على حلقـة سداسية (البيريمدين Pyrimidine) متصلة بحلقـة خماسـية (حلقة الاميدازول Imidazole)، ويـعـتـبر كل من الادينين والكوانين القـاعدة الاساسية للأحماض النووية. ومن البيورينات المهمة الأخرى غير الموجودة في الأحماض النووية هي :

أ ـ حامض اليورك.

ب ـ الهايبوزانثين.

جـ ـ N ـ داي مثيل كوانين.

د ـ 1 ـ مثيل ـ هايبوزاتين.

وهناك العديد من المتشابهات البيورينية التي لا تدخل كمكون للأحماض النووية، إلا انها تساهم بأدوار خاصة ومنها :

أ ـ الكافيئين Caffine : 1 , 3 , 7 ثلاثي مثيل الزانثين (1, 3, 7- Trimethyl Xanthine) التي تنتشر في القهوة والشاي والنباتات الأخرى.

ب ـ الثيوبرومين Theobromine : ويوجد في الشاي والكاكاو.

8 - 3 القواعد البيريميدينية Pyrimidine Bases

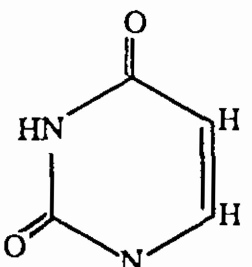
إن أكثر هذه القواعد انتشاراً في الأحماض النووية هي :

1 - اليوارسيل .Uracil

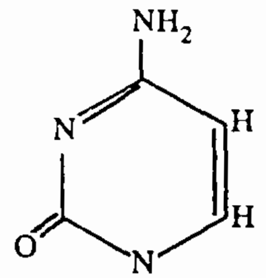
2 - الثايمين .Thymine

3 - السايتوسين .Cytosine

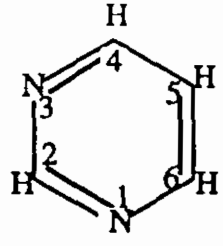
ويوجد السايتوسين في كل من الـ ر.ن.أ (RNA) والـ د.ن.أ (DNA)، أما اليوراسيل فموجود في الـ ر.ن.أ (RNA) فقط، بينما يوجد الثايمين Thymine في الـ د.ن.أ (DNA).



Uracil اليواسيل
4,2 داي اكسي بيريمدين
2,4 Dioxy rimidne Primidine



Cytosine السايتوسين
2 ـ اكسي ـ 4 ـ امينو بيريمدين
2-Oxy-4-Amino Primidine

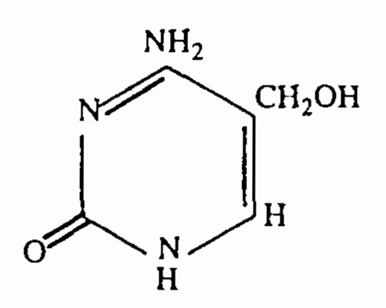


Pyrimidine

أما البيريمدينات الأخرى الأقل انتشاراً فهي (5 ـ مثيل سايتوسين)(5- Methyl Cytosine) المستخرجة من د.ن.أ (DNA) (جرثومة الحنطة)، وكذلك د.ن.أ (DNA) الموجودة في غدة الثايمس (Tymus) ولكن بتركيز قليل جداً .

وعوضا عن السايتوسين Cytosine فهناك قاعدة بيريمدينية تسمى بـ سايتوسين Cytosine (هيدروكسي مثيل) OH methyl الموجودة في فيروسات البكتريا، أما ر.ن.أ RNA الذائب فيوجد فيه داي هايدرويوراسل Dihydrouracil وكذلك السيدويوريدين Pseudouridine .

5 - Methyl cytosine



5 - OH Methyl cytosine

Dhydrouracil

Pseudouridinc

تتصف القواعد البيورينية والبيريمدينية بانها غير ذائبة نسبياً في الماء فهي مركبات قاعدية ضعيفة يمكن أن تحدث بشكل توتمري أو اكثر معتمدة بذلك على الأس الهيدروجيني، فاليوراسل موجود بشكلين : اللاكتام (Lactam) واللاكتيم (Lactim) . الشكل (8 - 3).

(II)

(II)

Adenine

Guanine

(III)

(IV) الاشكال التوتومرية للقواعد البيورينية

(I) Amino , (II) Imino , (III) Enol , (IV) Keto

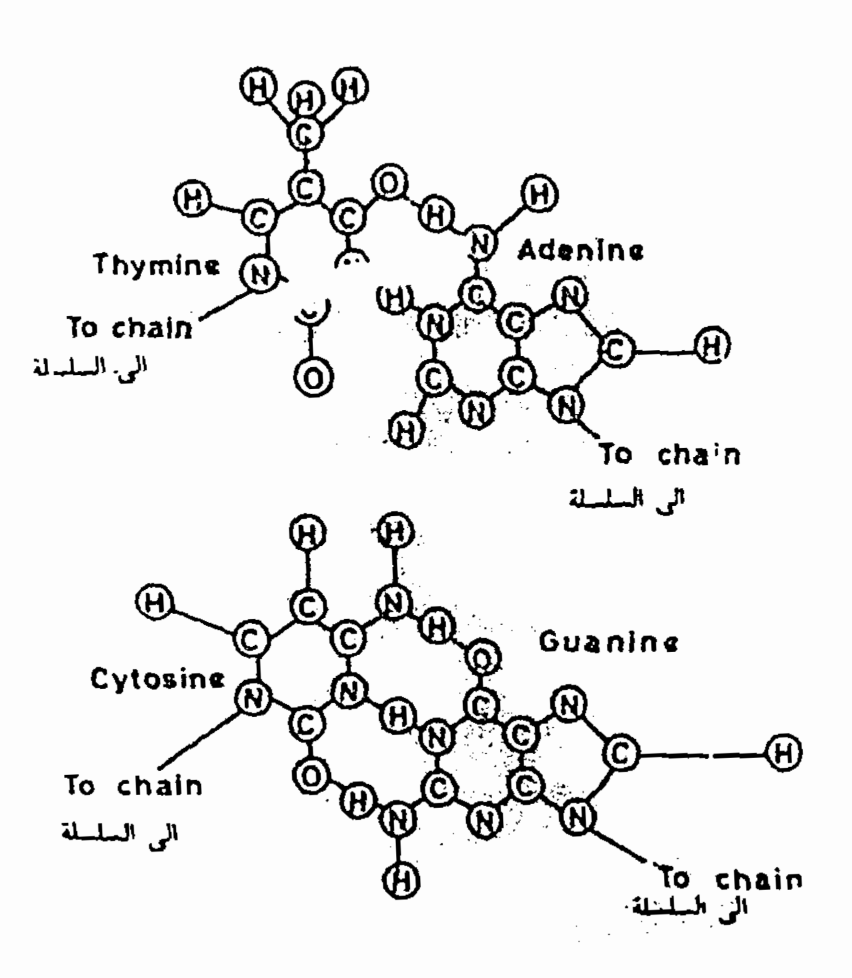
Keto—enol tautomerism in nucleotide base.
are in the enol form they can ionize.

$$HO-C \rightleftharpoons O^{-}-C + H^{+}$$

الشكل (8 - 3)

الأواصر الهيدروجينية والقواعد النتروجينية

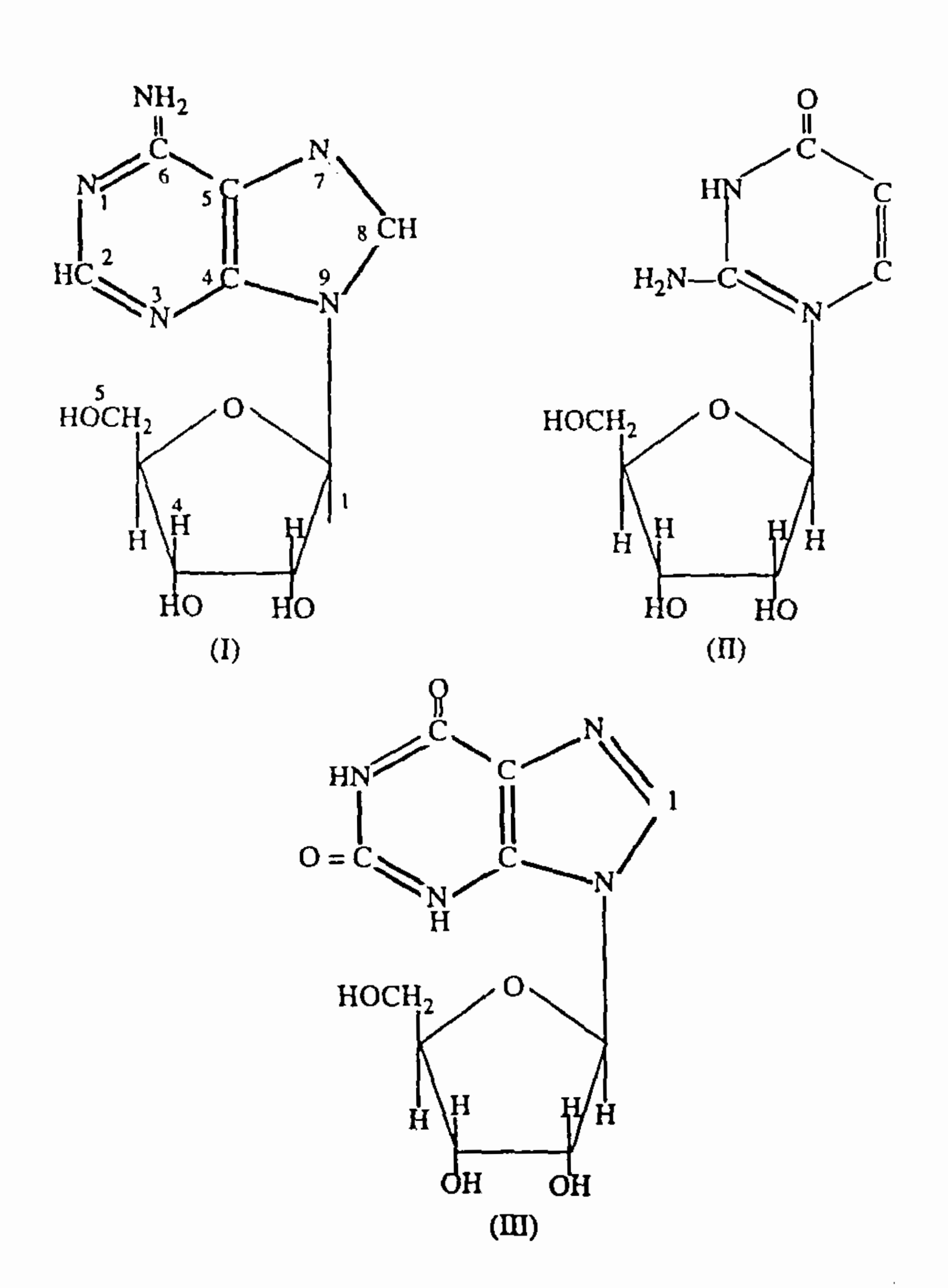
تؤثر الأواصر الهيدروجينية تأثيراً كبيرا في ثبات التركيب البنائي للحامض النووي حيث تتمكن $C = O$ مع NH_2 من تكوين الأواصر الهيدروجينية وبالاخص بين الادينين والثايمين والكوانين والسايتوسين (انظر الشكل 8 - 4).



الشكل (8 - 4)

الأواصر الهيدروجينية بين زوجين من القواعد النتروجينية

أ ـ الثايمين مع الادينين   ب ـ السايتوسين مع الكوانين



الشكل (8 - 5)

النكليوسايدات البيورينية الاساسية

(I) Adenosine (A,Ado) الادينوسين

(II) Guanosine (G, Guo) الكوانوسين

النكليوسايدات :

توجد النكليوسايدات بكميات صغيرة جداً في معظم الخلايا، كما إن النكليوسايدات أكثر ذوباناً في الماء من القواعد الحرة حيث يمكن فصلها وتشخيصها بالطرق الكروموتوغرافية، إضافة إلى ذلك فالنكليوسايدات مستقرة نسبياً في المحيط القاعدي، كما إن النكليوسايدات البيورينية سهلة التحلل المائي بواسطة الحامض لتكون السكر الخماسي والقاعدة، إلا أن النكليوسايدات البيريميدية تقاوم التحلل المائي الحامضي ويتم تحلل النكليوسايدات من كلا النوعين بواسطة الإنزيمات.

إلا أن هناك نكليوسايدات ذات اهمية حياتية إلا أنها لا توجد في الأحماض النووية نذكر منها بعض الأمثلة في الشكل (8 - 5) .

وهناك بعض النكليوسايدات التي تتواجد في الأحماض النووية (الشكل 8 - 8).

8 - 4 ـ النكليوتايدات Nucleotides

وهي أستيرات النكليوسايد الفوسفاتية، وتتكون من أسترة ثلاثة مواقع هيدروكسيلية في الرايبوز بمجموعة الفوسفات ('2 ,'5 ,'3) أما في الديوكسي رايبوز فهناك مواقع '3 و '5 حرة تحصل فيها الأسترة الفوسفاتية. وعندما تضاف مجموعة فوسفاتية واحدة نحصل على المركب التالي:

Inosime- 5- monophos phate (IMP)
Inosinic acid

الانوسين أحادي الفوسفات

أما عند إضافة مجموعتين من الفوسفات فيتكون المركب التالي:

Adenosine diphodphate (ADP)　　الادينوسين ثنائي الفوسفات

وأدناه بعض الامثلة للأسترة الفوسفاتية حيث تختلف حسب عدد مجاميع الفوسفات ومواقعها لتعطي نكليوتايدات مختلفة.

Adenosine triphosphate
الادينوسين ثلاثي الفوسفات

Adenosine-3'- monophosphate
الادينوسين أحادي الفوسفات

وهـنـاك بـعض أنواع النكليـوتايدات التي لا تظـهـر في الأحماض النووية بل هي حرة تقوم بوظائف كيميائية متعددة (انظر الشكل 8 - 6) :

Uridine diphosphate glucose (UDPG)

Cyitdine diphosphate cholinc

Adenosine-3'-5'-monophosphate

الشكل (8 - 6)

بعض النكليوتايدات التي لا تظهر في الأحماض النووية

النكليوتيدات المحدودة :

يمكن تسمية الشكل التالي من النهاية '5 إلى اليسار باتجاه اليمين de-oxythymidylyl, deoxyadenylyl, deoxycytidyl, deoxyquanylyl.

5' Teminus

Adenine

Cytosine

Guaning

Thymine

3 Terminus

الشكل (8 - 7)

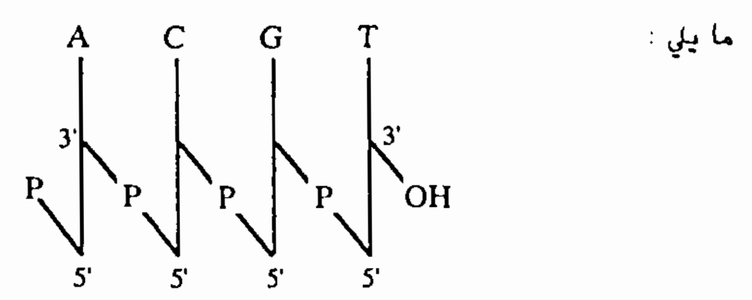
التركيب البنائي للنكليوتايد الرباعي "Tetranucleotide "

المتكون من أربع وحدات نكليوتايدية

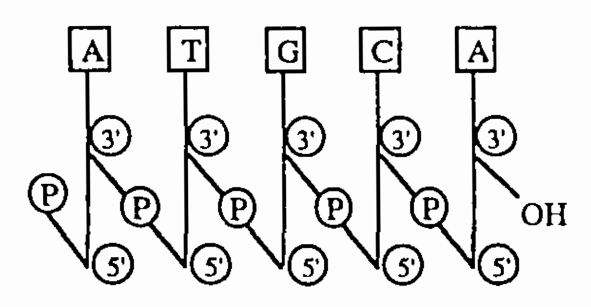
يمكن تسمية الشكل أعلاه من النهاية '5 إلى اليسار باتجاه اليمين :

deoxythymidylyl, deoxyadenylyl, deoxycytidyl, deoxy quanylyl.

وتسمى بـــ D A D C D G D T كما يمكن كتابة التركيب بطريقة مختصرة وفق ما يلي :



حـيث يمثل الخط العمودي مجموعة الدوكسي رايبوز مع الموقع 5—OH في القعر و 3—OH في المنتصف ويمثل الخط الذي يربط الـ 3 و 5 الـ 5 , 3 الآصرة الفوسفاتية ثنائية الاستر وتمثل P على الجانب الايسر من الخط العمودي الفوسفات في الموقع 5 ، بينما الفـوسفات في الـ 3 فـتـمـثل بوضع مجموعة الفوسفات على الجانب الأيمن من العمود. وتمثل القواعد بمختصراتها (C, G, T, A) .

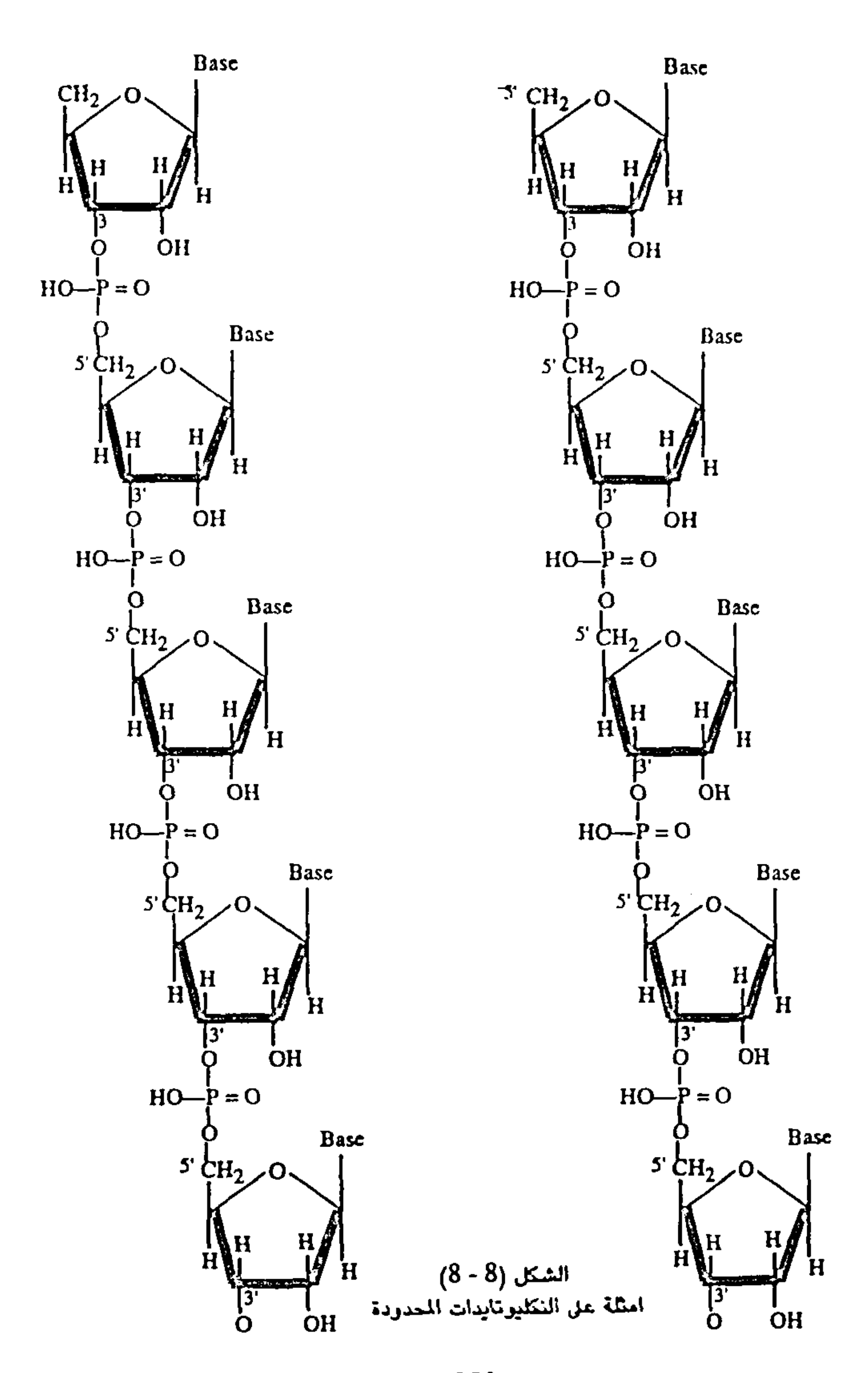


5' → 3'

يكتب التركـيب البنائي للشريط المنفرد بالنهاية 5 إلى اليسار والنهاية 3 إلى اليمين وباتجاه 3 → 5 ويمكن تمثيل الديوكسي رايبوز ـ كليوتايدات الخماسية بطريقتين:

أ ـ PATGCA

ب ـ PAPTPGPCPAP



الشكل (8 - 8)
امثلة على النكليوتايدات المحدودة

8 - 5 الأحماض النووية

الاحماض النووية مركبات ذات وحدات جزيئية عديدة تسمى بمقررات الكائنات الحية الوراثية، ولا تتركز هذه الاحماض في النواة فقط بل توجد أيضاً في السايتوبلازم متحدة مع البروتينات مكونة البروتينات النووية (البروتينات البسيطة مثل الهستون أو البيروتامين).

تنتظم الجينات (مقررات الكائنات الحية) في داخل الخلية أو الفيروس وبصورة خطية على جزيئات طويلة من الاحماض النووية (د.ن.أ) تسمى بالكروموسومات. تحتوي الخلية بدائية النواة (البكتريا والأشنات الخضراء الزرقاء) على جزيئة منفردة من الـ د.ن.أ، أما الفيروسات فهي جينات محفوظة في غلاف بروتيني مغطى بغشاء تتكاثر ضمن الخلية المضيف.

أما الجينومات (المحتوى الوراثي الكلي) للخلايا بدائية النواة وكذلك الفيروسات فهي ذات نسخة واحدة فقط من كل جين بالخلية وإن معظم الخلايا حقيقة النواة من النوع ذي النسختين حيث إن الجين يمكن أن يوجد بحالة اليلين متشابهين أو مختلفين، والاخيرة إما أن تكون متغلبة او متنحية .

تحتوي بعض الخلايا على الـ د.ن.أ خارج الكروموسوم مثل البلازميدات الموجودة في البكتريا وبعض الخلايا حقيقية النواة أو في المايتوكوندريا أو الكلوروبلاست.

تتكون الاحماض النووية من نكليوتايدات مرتبطة ببعضها مكونة سلاسل تختلف أطوالها تبعاً لعدد النكليوتايدات، ويحدث الارتباط بين وحدة حامض فوسفوريك أحد النكليوتايدات مع مجموعة هيدروكسيل من النكليوتايد التالي له.

فالأحماض النووية بصفة عامة هي مركبات عديدة النكليوتايدات وتختلف من حيث نوع وحدة السكر ونوع القواعد الداخلة في تكوين نكليوتايداتها وتقسم إلى نوعين أساسيين تبعاً لنوع وحدة السكر:

أ ـ حامض نووي رايبوزي (الـ ر.ن.أ) (RNA) (Ribonucleic acid).

ب ـ حامض نووي ديوكسي رايبوزي (ال د.ن.أ) (DNA) (Deoxy ribonucleic acid).

تتكـون آصـرة الفوسفات ثنائية الإستر (3', 5' . Phosphodiester) التـي تربـط وحـدات الـرايبـوز D—ibose فـي الـ ر.ن. أ (RNA) و (الـديـوكسـي رايـبـوز) 2- Deoxy-1- ribose في الـ د.ن.أ (DNA) إضـافة إلى ذلك فالأحماض النووية تحتوي على وحـدات نسـميها نكليوسايدات Nucleosides (القـاعـدة النتروجـينية + السكر) والنكليوتايد (القاعدة النتروجينية + السكر+ الفوسفات). وعند ربط 2 - 20 نكليوتايد نحصل على النكليوتايدات المحدودة، أما في الاتحادات الأكبر فنحصل على النكليوتايدات المتعددة Polynucleotides.

مقارنة تركيبية بنائية بين أنواع الأحماض النووية:

تقسم الأحماض النووية بصورة عامة إلى :

أ ـ الـ ر.ن.أ (RNA) (Ribonucleic acid) :

ويتمركز في سايتوبلازم الخلية .

ب ـ الـ د.ن.أ (DNA) (Deoxy ribonucleic acid) :

المكون لنواة الخلية

د.ن.أ	ر.ن.أ
(1) يوجد في النواة بصورة رئيسية	يوجد في داخل النواة وخارجه
(2) يحتوي على السكر (ديوكسي رايبوز)	يحتوي على السكر (الرايبوز)
(3) يحتـوي على القـواعـد: الثايمين، السايتوسين، والكوانين، والادينين.	يحتـوي على القـوّاعد: اليوراسل، والسـايتوسين، والكوانين، والادينين

تقسم الأحماض النووية من الناحية التركيبية إلى :

1 - الأحمـاض الـنووية ذات الشريط المزدوج: وتمثل عـادة بالـ د.ن.أ والـ ر.ن.أ ذات الشريط المزدوج.

2 - الأحماض النووية ذات الشريط المنفـرد: وهي الأحماض التي لا تزدوج بها القواعد

لعـدم وجود شريط متمم "Complementary strand". إلا أنها قـد تحتوي على شريط منفرد فيه مناطق حلزونية قصيرة تتكون من ازدواج القواعد بينها.

أنواع الاحماض النووية:

هناك نوعان من الأحماض النووية:

(1) الـ د. ن. أ (DNA).

(2) الـ ر. ن. أ (RNA).

يختلف المجـمـوع الكلي للـ ر. ن. أ لكل نسيج من نفس الكائن الحي ويختلف من كـائن حي إلى آخـر وأن نسـبة $\frac{\text{د. ن. أ}}{\text{ر. ن. أ}}$ تختلف في خـلايا مختلف الانسجة بينما نسبة $\frac{\text{ر. ن. أ}}{\text{بروتين}}$ فهي ثابتة في الأنسجة المختلفة لنفس الكائن الحي.

أمـا كـمية الـ د.ن.أ لنواة نسيج ما فهي مختلفة من كائن حي إلى آخر وإن كمية الـ د. ن. أ من أنسجة مختلفة لنفس الكائن الحي ثابتة.

ويصل الـوزن الجـزيئـي للجزيئة المنفـردة للـ د. ن. أ في بكتريا الاي كولاي إلى $10x3^{9}$ وإن د. ن. أ للخليـة الحـيـوانيـة أكبر بكثير من البكتيريا كما أن مجموع الوزن الجزيئي للـ د.ن. أ من كروموسومات الخلية المنفردة قد يصل إلى 10^{11} أو 10^{12}.

وتعود معظم الصفات الحياتية والفيزيائية للأحماض النووية إلى الملامح التركيبية لها.

الـ د. ن. أ (DNA)

طبيعة ووظيفة الـ د. ن. أ وموقعه الخلوي

(1) يحتوي الـ د. ن. أ على المعلومات الوراثية الأساسية لجميع الخلايا الحية، ويتحدد مـوقـع الـ د. ن. أ في مـركـز النشـاط الوراثي للخليـة، وفي الخـلايا بدائيـة النواة (الـبروكـاريوت) وهو الذي لا يملك نواة محددة. يتـوزع النشـاط الوارث في جميع أنحاء الخلية، بينما يوجد معظم الـ د. ن. أ في الخلايا حقيقية النواة متحداً في النواة

مع بروتين الهستون مكوناً الكروماتن والذي يعبر عن نفسه خلال بعض المراحل المعينة لانقسام الخلية بكروموسومات زوجية منفصلة.

وتنتظم في الألياف الكروموماتينية الموجودة في النواة المحاطة بنظام غشائي مزدوج ومعقد.

(1) وظائف الـ د. ن. أ

(أ) يقوم الـ د. ن. أ بخزن المعلومات الوراثية الكاملة المطلوبة لتخصيص التركيب البنائي لجميع البروتينات والـ ر. ن. أ المختلفة.

(ب) برمجة البناء الحياتي الخلوي والمكونات النسيجية استناداً إلى عاملي الوقت والمكان.

(جـ) قياس نشاطات الكائن الحي خلال دورة الحياة.

(د) تحديد الشخصية الفردية للكائن الحي.

(2) تتميز سلسلة الـ د. ن. أ بكونها طويلة جداً تتكون من عدة آلاف من الديوكسي رايبونكليوتايدات (Deoxyribonucleotides) ذات الأنواع الأربعة متسلسلة بطريقة خاصة في كل كائن حي، كما تتميز بكونها تشكل تركيباً حلزونياً مزدوجاً.

يتميز الكروموسوم في الخلايا بدائية النواة بكونه جزيئة كبيرة منفردة من الـ د. ن. أ مركزه في منطقة النواة المسماة بالنكليود (Nucleoid) .

(3) تحتوي الخلايا حقيقية النواة على العديد من جزيئات الـ د. ن. أ كل واحدة منها أكبر من جزيئة الـ د. ن. أ المنفردة الموجودة في الخلايا بدائية النواة والجدير بالذكر أن جميع أشكال الحياة والتي تتضمن الكائنات الحية متعددة الخلايا، وأحادية الخلية، والفيروسات تحمل الـ د. ن. أ كمادة وراثية.

تختلف الأنواع الحية بكمية الـ د. ن. أ التي تحملها وعدد الكروموسومات، فمثلا البكتريا الاكثر انتشاراً تحمل كروموسوماً دائرياً منفرداً وتحتوي على 4×10^6 من أزواج القواعد، بينما تحتوي نواة الخلية البشرية على 6×10^9 من أزواج القواعد،

تتوزع على 23 زوجاً من الكروموسومات الخطية، بينما تحتوي المايتوكوندريا البشرية على كـروموسوم دائري صـغير. وبينما تكون كروموسومات النواة مسؤولة عن معظم البروتينات التي تتـولد في الخـلايا البشرية، نجـد أن كـرومـوسـومات المايتوكوندريا تحتوي على الوحدات الوراثية المسؤولة عن بناء البروتينات الموجودة في المايتوكوندريا.

تحـتـوي كـل خليـة من الكائنات الحية متعددة الخلايا على نفس كمية الـ د. ن. أ، وإن محـتـوى الـ د. ن. أ الكلـي في الخلية يسمى بالجينوم (Genome) وإن جزءاً من الـ د. ن. أ المسؤول عن وظيفة معينة (مثال سلسلة ببتيدية) يسمى بالجين.

الشكل (8 - 9)

العمود الفقري للـ د. ن. أ

يتكون من السكر المرتبط بالمجموعة الفوسفاتية (النكليوسايد) الذي يتصل به بواحدة من القواعد الاربع التالية :

أ - الادينين A.

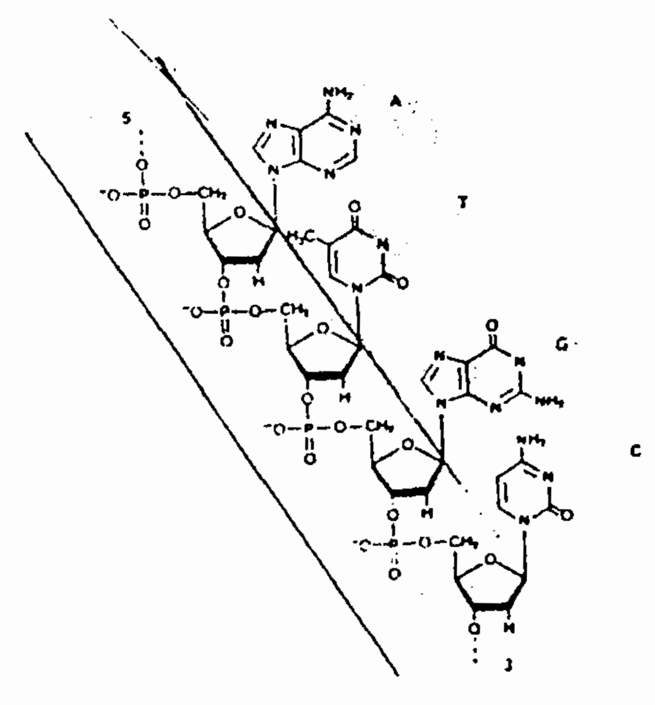
ب - الكوانين G.

ج - السايتوسين C.

د - الثايمين T.

ترتبط المجموعة الفوسفاتية بذرة الكربون ('5) للسكر مع ذرة الكربون ('3) للسكر الثاني.

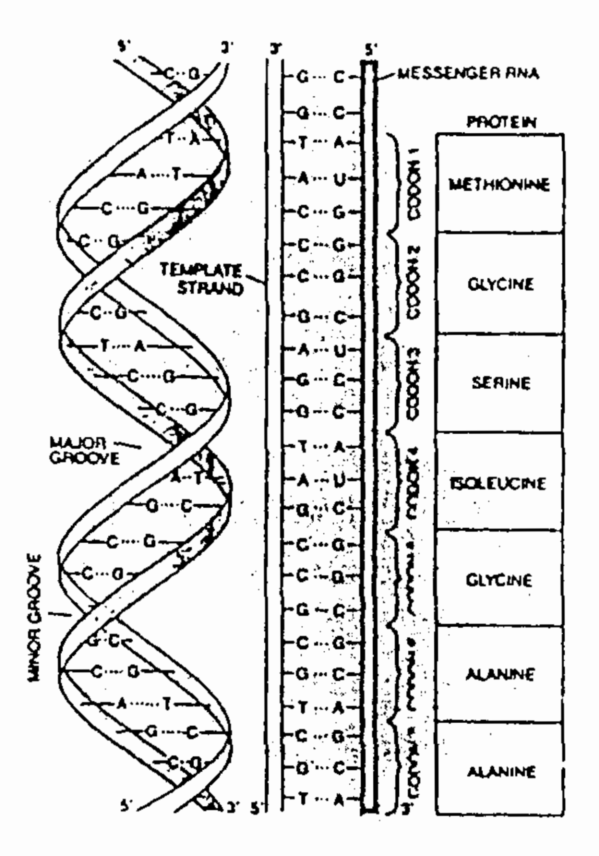
(تشكل المكونات الثلاثة الوحدة البنائية للأحماض النووية، ففي حالة الـ د. ن. أ تسمى بالديوكسي رايبونكليوتايد وفي حالة الـ ر. ن. أ تسمى بالرايبونكليوتايد).



الشكل (8 - 10)

مقطع من الـ د. ن. أ يحمل أربع قواعد هي الادينين (A)، والثايمين (T)، والكوانين (G)، والسايتوسين (C)، وتمثل بين الخطين (العمود الفقري السكر الفوسفاتي).

ويمثل الشكل (8 - 10) مقطعاً من الـ د. ن. أ يتضمن وحدات من الديوكسي رايبونكليوسايد أحادي الفوسفات (dAMP و dGMP و dCMP و dTMP) متصلة ببعضها البعض بواسطة الأواصر الاستيرية التي تربط المجموعة الهيدروكسيلية في الموقع '3 من نكليوتايد إلى '5 الفوسفات للأخرى.



الشكل (8 – 11)

يمثل الشكل (8 - 11) عملية نقل المعلومات الوراثية من الـ د. ن. أ عن طريق الـ ر. ن. أ الرسول للبروتين :

1 – الـ د. ن. أ بشكل حلزوني مزدوج.

2 – الـ ر. ن. أ الرسول بشكل خاتم يحمل شفرات وراثية حصل عليها من الـ د. ن. أ.

3 – البروتين حيث أن كل حامض أميني وضع في مكانه المناسب بفعل الشفرة المنقولة من الـ د. ن. أ عن طريق الـ ر. ن. أ الرسول.

الـ د. ن. أ مواد وراثية :

الأدلة الكيميائية الحياتية :

1 ـ إن كمية الـ د. ن. أ لاي نوع من الخلايا أو كائن حي ثابتة ولا تتغير بتغير الظروف الخارجية أو الغذاء أو العمليات الحياتية.

2 ـ تتناسب كمية الـ د. ن. أ في الخلية مع التعقيد الخلوي. (الجدول 8 - 2) .

الجدول (8 - 1)

النـــــــــوع	كمية الـ د. ن. أ للخلية ـ بيكوغرام
الثديات	6
الأسماك	2
الطيور	2
النباتات المطورة	2.5
الفطريات	0.17 - 0.02
البكتيريا	0.06 - 0.002
العاثية البكتيرية	0.00024
العاثية البكتيرية لامبدا	0.00008

فالخلية التابعة للكائن الحي ضمن المرتبة العالية لمقياس التطور تملك أكبر كمية من الـ د. ن. أ / الخلية، فالبكتيريا تحتوي على كمية صغيرة من الـ د. ن. أ / الخلية، بينما الانسجة في الحيوانات العليا تحتوي على 6 بيكوغرامات من الـ د. ن. أ / الخلية، فالخلية الجنسية للحيوانات العليا تملك نصف كمية الـ د. ن. أ في الخلايا الجسمية لنفس النوع.

الجدول (8 - 2)

كمية الـ د. ن. أ في خلايا الدجاج

النسيج	الـ د. ن. أ بيكوغرام / الخلية
القلب	2.45
الكلية	2.20
الكبد	2.66
البنكرياس	2.61
خلايا الحمين	1.26

التركيب الثانوي للـ د. ن. أ :

هناك أدلة عديدة أدت إلى معرفة التركيب الثانوي للـ د. ن. أ (الذي يتمثل بمتعدد الجزيئة deoxy riborucleotides) الخطي من أربعة أنواع من النكليوتايدات اللاأوكسجينية مرتبطة بالأواصر `3`, 5 الفوسفاتية ثنائية الاستر :

أ ـ الأدلة المستقاة من نسب القواعد :

قام جاكارف في عام 1950 بتحديد نسب القواعد في الـ د. ن. أ، ووجد أن هناك أصول محددة لهذه النسب تعتمد على أنواع الـ د. ن. أ ومصادرها المختلفة :

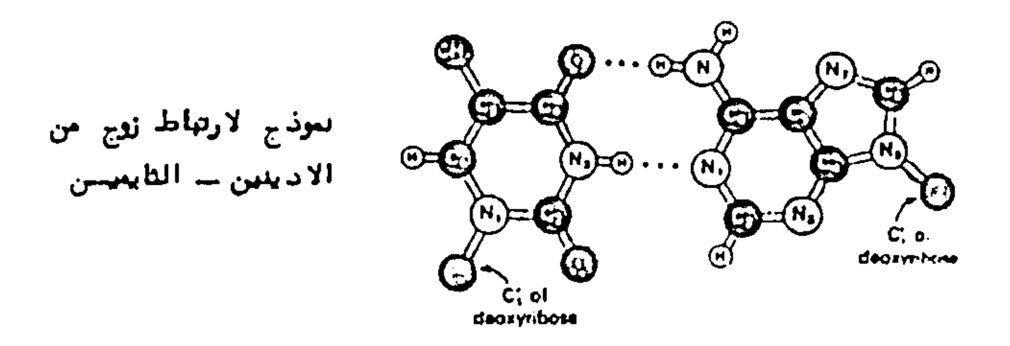
أ – هناك أربع قواعد هي : الادينين والكوانين والثايمين والسايتوسين.

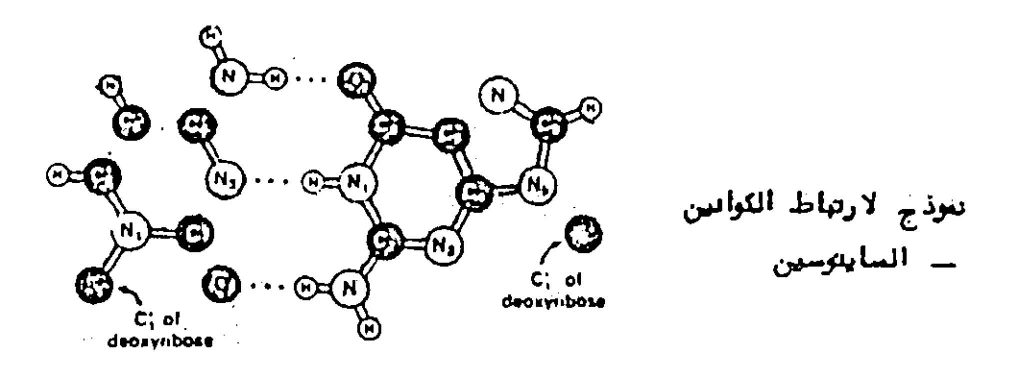
ب – إن عدد القواعد البيوردينية = عدد القواعد البيريمدينية، أي إن (الادينين + الكوانين) = (السايتوسين + الثايمين).

ج – إن الكوانين G = السايتوسين C ، وإن الادينين = الثايمين .

وقد أوضح ازدواج القواعد الخاصة صحة توقعات جاكارف بالنسبة إلى (نسبة البيورينات إلى البيريمدينات) في الـ د. ن. أ ذي الحلزون المزدوج، حيث إن نسبة T/A و C/G تساوى واحد.

د – إن محتوى الـ د. ن. أ من G + C يختلف بين مختلف الانواع (الاي كولاي، جينات الـ ر. ن. أ الرايبوزي، بعض الاسماك).





ب ـ دراسـات ولكنز وفرانكلين Wilkins & Franklies للأشـعة السينية : والتي اقترحت نموذجاً للتركيب البنائي للـ د. ن. أ في أوائل عام 1950 كما يلي :

1 - إن جـزيئة الـ د. ن. أ تتكون من شريطين، كل واحـد منهما عـبارة عن نكليوتيدات مـتـعـددة حلزونية تلتف حول محور مشترك لكي تشكل حلزوناً مزدوجاً يميني الاتـجاه.

2 - إن قـواعـد البـيورينات والبيريميدينات لكل سلسلة نكليوتايدية متعددة تتوجه إلى داخل مركز الحلزون المزدوج، أي أنها تواجه بعضها البعض.

3 - وقـد أوضـحت النماذج الخـاصة بحيود الأشعة السينية أن ألياف الـ د. ن. أ لها مـقطعـان خـلال المحـور الطولي : الأول الرئيسي يبلغ 0.34 نانومتر والثـاني 3.4 نانومتر.

نموذج واتسن وكرك Watson & Crick Model

قـام كل من واتسـون وكـرك في عام 1953 (الأول مخـتـص بعلم الوراثة والثـاني فـيزيائي) بوضـع نموذج يمثل التركيب البنائي الثانوي للـ د. ن. أ على ضـوء دراسات جـاكـارف حـول نسب القواعد النتروجينية، وكذلك دراسات ولكنز في الأشعة السينية تتـوضـح فيه الابعاد، وأن الادينين = الثايمين، والكوانين = السايتوسـين.

الملامح العامة لنموذج داتسون و كرك :

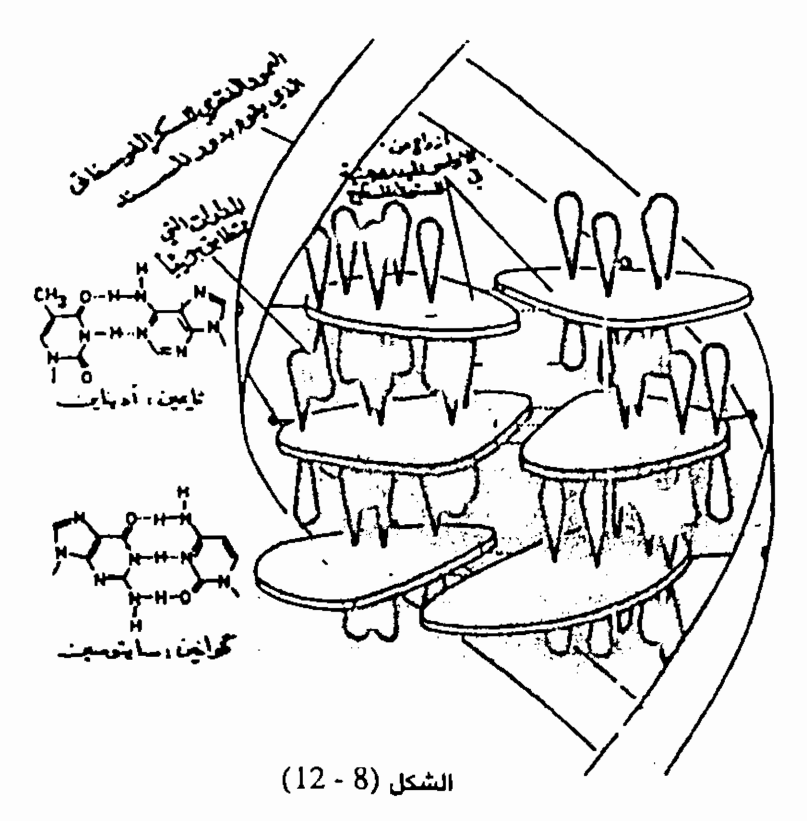
أولاً : يـتركب الـ د. ن. أ من سلسلتين من النكوتايدات الديوكسـيـة المتـعـددة تلتف الـواحـدة حلزونيـاً حـول الاخـرى، وكل سلسلة تشكل مـا يسـمى بالشريط (Strand) . ويطلق على الحلزون بالمزدوج ذي الاتجاه اليمين.

ثانيـاً : ترتبط السلسلة النكليوتايدية بالآصرة ثنائية الاستر الفوسفاتية ضمن الشريط الواحد.

ثالثـاً : تواجـه القـواعد البيورينية والبيريمدينية بعضـها البعض، بحيث يواجه الادينين بصـفـة خاصة الثايمين، أما الكوانين فيواجهه السايتوسين عن طريق الأواصر الهيدروجينية.

رابعـاً : تحـصل عـمليـة ازدواج القـواعـد بتكوين الأواصر الهيدروجينية، حيث يكون الادينين مع الثـايمين آصرتين أما الكوانين فيكون ثلاث أواصر مع السايتوسين الشكل (8 - 12) وهـي أكـثـر ثـبـاتـاً مـن الأواصر التي تتكون بين الادينين والسـايتوسين، وكذلك الادينين والكوانين، فبالتصاق الكترونات باي π بمدارات القواعد المزدوجة تصبح أكثر ثباتاً لهذا التركيب (الشكل 8 - 12).

إن ازدواج القـواعـد والتي أكـدت فـرضيات جاكارف المتعلقة بنسب T/A و C/G تـنـطبق على الحلزون المزدوج، أمـا الـ د. ن. أ ذو الشريط المنفـرد الموجـود في بعض الفيروسات فلا تنطبق عليه هذه الفرضية.



الشكل (8 - 12)

العوامل التي تحدد من ملامح التركيب الثاني للـ د. ن. أ

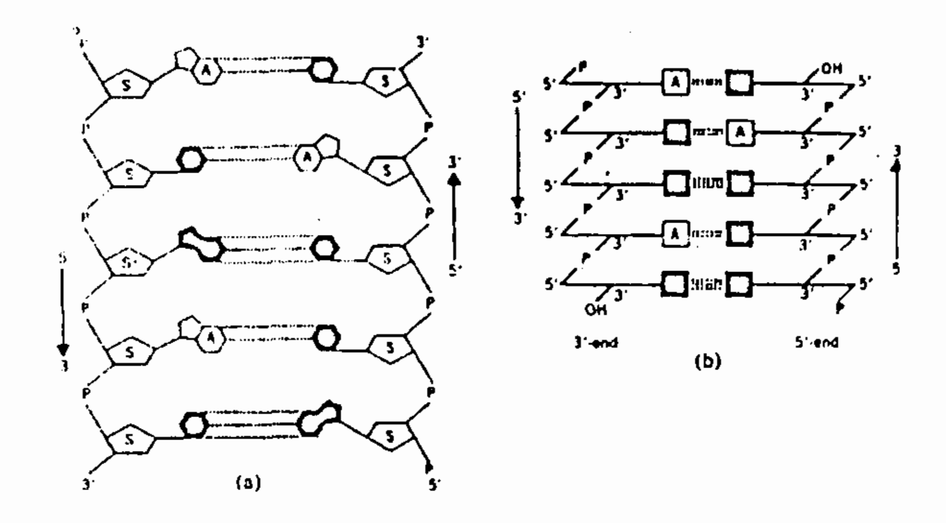
الشكل (8 - 13)

تكوين الأواصر الهيـدروجينية بين الثايمين والادينين وبين السايتوسين والكوانين

إن كل زوج من القواعد المتقابلة لابد وأن يكون من قاعدة كبيرة (بيورين)، وقاعدة صـــغيرة (بيريمـدينيـة) وإن زوجـاً من البيورينات يكون أكبر من الحيز الموجود بين الـســلـسـلتين، وزوجـاً من البيريمـدينات يكون أقصر من المطلوب لربط السلسلة مع بعضها.

الشكل (8 - 14)

طبيعة التآصر الهيدروجيني حيث يزدوج الثايمين مع الادينين والسايتوسين مع الكوانين.



الشكل (8 - 15)

التركيب البنائي الجزيئي للـ د. ن. أ موضح فيه السكر الخماسي (S) – الفوسفات (P) للسلاسل النكليوتايدية وطبيعتها المتمثلة بـ ضد التوازي.

(a) التركيب البنائي الجزيئي.

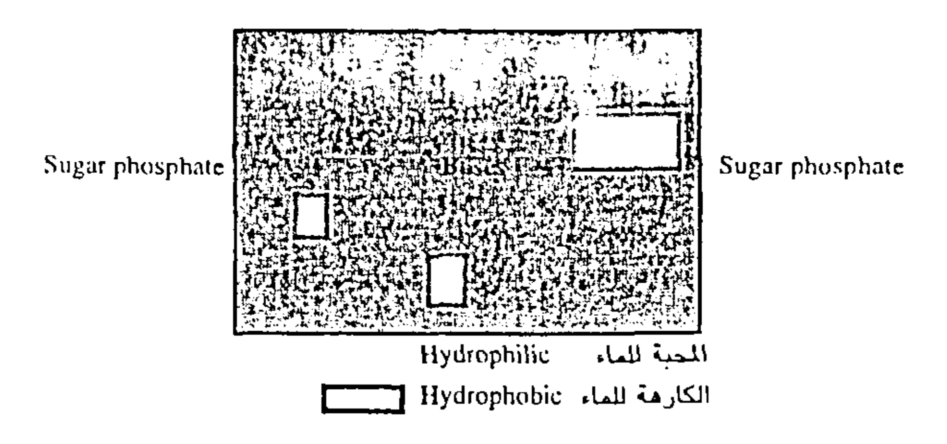
(b) الرسم التخطيطي المختصر الذي يتمثل بـ :

القطبية العكسية (opposite polarity) للاشرطة المتممة (complementary strands).

سابعاً : يختلف ترتيب القواعد النتروجينية في الاحماض النووية (الـ د. ن. أ) وفي السلسلة الواحدة.

ثامناً : تقع الحلقات السكرية في مستويات موازية لمحور الحلزون وتمسك جميع الفوسفاتية في الخارج.

تاسعاً : يشبه التركيب البنائي النهائي للـ د. ن. أ الاسطوانة، حيث أن المنطقة الهيدروفوبية للقواعد النتروجينية تكون داخلية، والهيدرفولية (المحبة للماء) ذات الشحنات الفوسفاتية تصبح خارجية أي خارج الحلزون مواجهة بذلك جزيئات الماء المحيطة.



Hydrophobic and hydrophilic regions in DNA

تنتظم القواعد الهيدروفوبية في داخل الحلزون المزدوج وبزوايا على يمين محور الحلزون وتكون كما ذكرنا اواصر هيدروجينية بين الاشرطة نفسها A مع T و G مع C.

عاشراً : استقرارية الحلزون المزدوج Stabillity of the double helix

تتحدد استقرارية الحلزون المزدوج بما يلي :

1 - الأواصر الهيدروجينية بين القواعد المزدوجة Longitudinal interaction.

2 - الالتحامات المفاعلية للقواعد المجاورة والتي تسمى بالتكدس القاعدي "Base stacking".

ويعود التكدس القاعدي إلى تراكب (overlapping) مدارات ألكترونات باي (π - electrons) للقواعد ضمن مستوى واحد، وبسبب هذه المفاعلة الألكترونية (الباي) فإن للـ د. ن. أ ذي الشريط المزدوج امتصاصاً للضوء واطىء عند الطول الموجي 260 نامومتر وأقل من الشريط المنفرد، وتسمى هذه الظاهرة بـ (النقصان بشدة الامتصاص) "Hypochromism".

3 - الأواصر الهيدروفوبية بين القواعد النتروجينية المجاورة للسلسلة النكليوتيدية المتعددة، حيث تساهم في اختفاء القواعد المكدسة في داخل الحلزون المزدوج والمجاميع القطبية خارج الحلزون بمواجهة جزيئات الماء. مما يزيد من استقرارية

الحلزون، كما يحدث الحال عند التركيب البنائي الثالثي للبروتينات الكروية. والجدير بالذكر هنا أن المجاميع الفوسفاتية في الجزء القطبي من الحلزون المزدوج تتأين حاملة الشحنة عند الاس الهيدروجيني، لذا فإن الـ د. ن. أ عبارة عن حامض قوي.

إحدى عشر : للـ د. ن. أ حيز (أخدود) يمكن أن يكون واسعاً أو ضيقاً (Wide and narow groove) ، وهناك عشرة أزواج من القواعد في كل دورة من الحلزون، ويطلق على هذا الشكل بيتا (β-Form) وهو ما اقترحه كل من واتسون وكرك. وعند إزالة الماء (dehydration) من هذا الشكل تتكون وضعية أخرى بترتيب فراغي جديد يسمى بالشكل A والذي يتميز بوجود أحد عشر زوجاً من القواعد في كل دورة حلزونية.

إضافة إلى ما أكده واتسون، فقد اقترحت أشكال أخرى للـ د. ن. أ من قبل باحثين ومنها Z -DNA (يساري الاتجاه Left handed) والذي يحتوي حلزونه المزدوج على 12 زوج قاعدي في كل دورة.

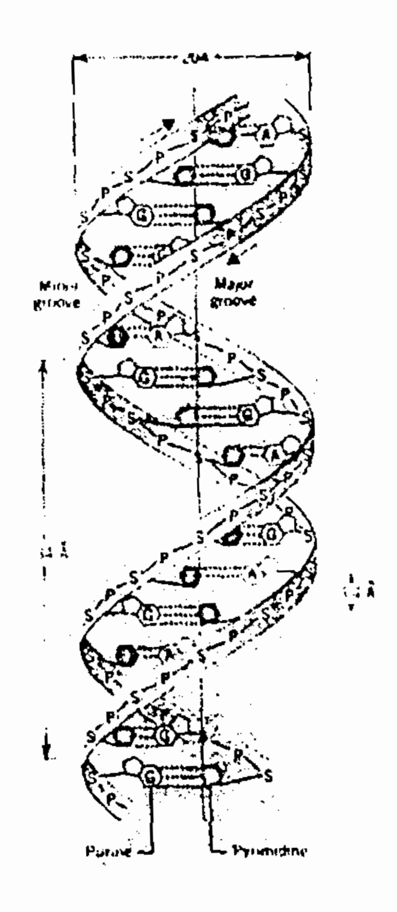
خلاصة عن التركيب البنائي للـ د. ن. أ :

أ – تلتف اثنتان من السلاسل النكليوتايدية الحلزونية المتعددة حول محور مشترك باتجاهين متعاكسين.

ب – تقع القواعد البيورينية والبيريمدينية في داخل الحلزون، بينما وحدات الديوكسي وايبوز والفوسفات في خارجه. وإن مستويات القواعد تكون عمودية على المحور الحلزوني أما مستويات السكر فهي تقع على يمين القواعد النتروجينية.

ج – يبلغ قطر الحلزون 20 انكستروماً والمسافة بين قاعدة وأخرى 3,4 انكستروم على المحور الحلزوني والمسافة بين عشرة قواعد فتبلغ 34 انكستروماً.

د ـ تتصل السلسلتان بواسطة الاواصر الهيدروجينية عن طريق الادينين والثايمين، وكذلك بين الكوانين والسايتوسين .



الشكل (8 - 16)

الرسم التخطيطي للحلزون المزدوج للـ د. ن. أ موضح فيه تزاوج القواعد المتممة والحيزات (الاخدودات) (grooves) الرئيسية والصغيرة. للحلزون المزدوج قطر يبلغ A°20، وكل دورة من هذا الحلزون تقدر بـ A°34 (انكستروم) كل نكليوتايد بـ = A°3.4 انكستروم.

P = يمثل الفوسفات ثنائي الاستر.

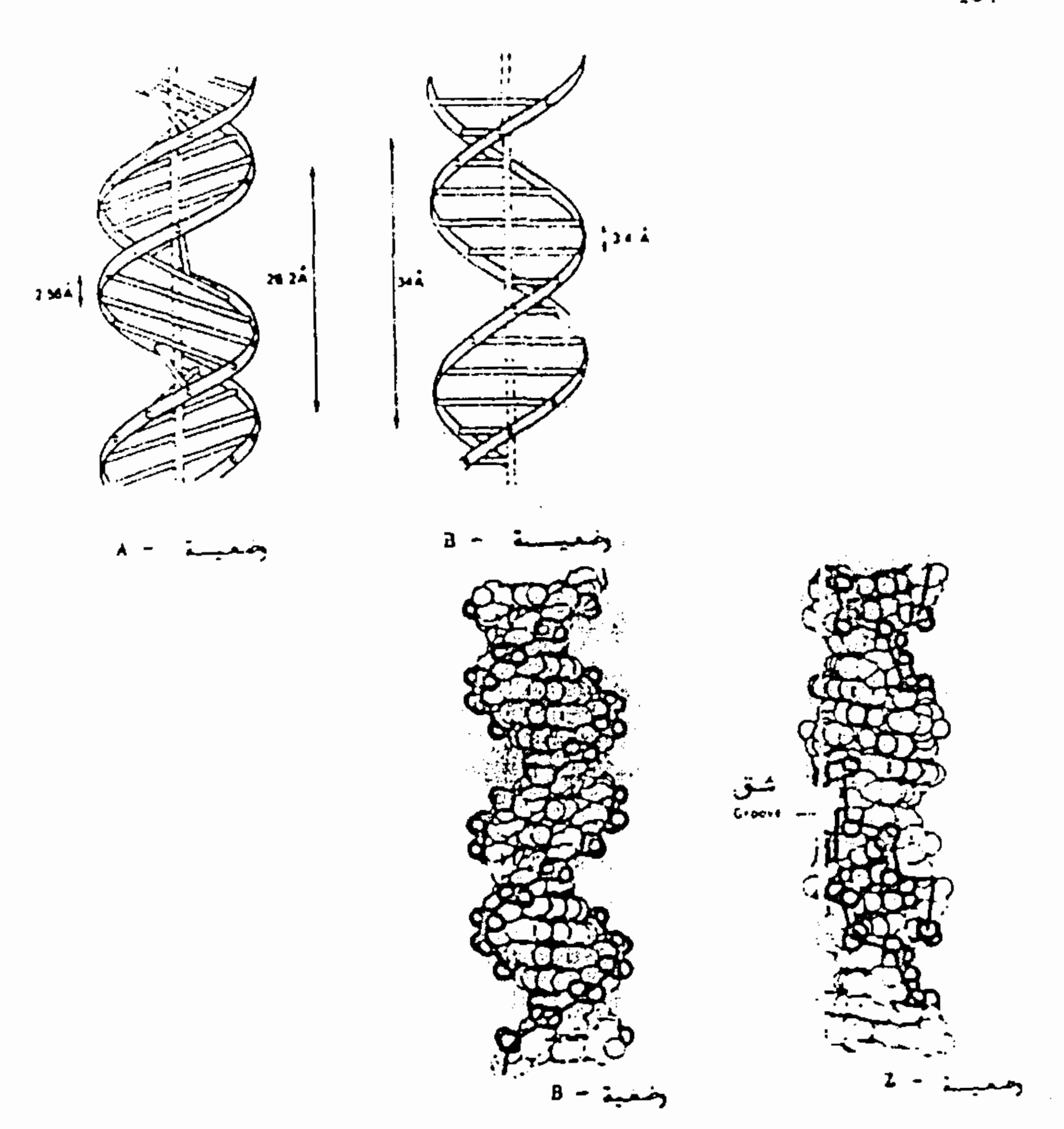
S = السكر الرايبوزي بدون اوكسجين (deoxy ribose).

A = T = زوج الادينين والثايمين.

G = C = زوج الكوانين والسايتوسين.

الشكل Z للـ د. ن. أ Z - DNA

يتـعايش هذا الشكل مع الشكل اليميني الاتجاه (بيتا د. ن. أ DNA - β) في نفس الجزيئة.



الشكل (8 - 17)

الوضعيات (Z, B, A) للـ د. ن. أ

الفصل التاسع

الإنزيمات

9 - 1 تقديـــــم

تطورت دراسـة الإنزيمات بسرعـة وأصـبحت لها حدود وأبعاد واضحة، وأخذت تتصرف بوصـفـهـا علمًا مسـتقلاً يرتبط بروابط قوية مع علوم اخرى مثل الكيمياء، والفـيـزياء وعلم الأحياء (الاحياء المجهرية، وعلم الحيوان، وعلم النبات)، وكذلك العلوم الزراعـيـة والطبـيـة كـالبـاثولوجـيا، والهندسة الكيميائية، وغيرها من العلوم الأخرى الكيميائية منها والحياتية.

وقـد نتج عن تطور بحـوث الإنزيمات استعمالات كثيرة وتطبيقات متنوعة إذ تم على سبيل المثال استعمال الإنزيمات في :

1 ـ تشـخيص العديد من الأمراض كأمراض القلب والكبد وغيرها.

2 ـ مـعالجة أمراض عدة كأمراض المعدة والأمعاء وغيرها.

3 ـ الصناعات الكيميائية الحربية المتنوعة.

4 ـ قياس العديد من المركبات سواء داخل الأسم الحي أو خارجه.

5 ـ المساهمة وبصورة مباشرة في بناء علم الهندسة الوراثية الحديث.

إن الاعتراف التـام بعلم الإنزيمات تأكـد عام 1833 عندمـا لاحظ كل من العالمين باير وبيرسـيز احتواء الراسب الكحولي (خلاصات الشعير) على مادة عطرية قادرة على تحـويل النشا إلى سكر أحادي بواسطة الإنزيم النشواز (Amylase) الذي سمي حينئذ (Diastase)، واقترح دكلور عـام 1898 اسـتعمال الأحرف الثلاثة ase ـ ليـضـاف إلى المادة التي تتـحـول إلى منتـوج مثل (سكريز) للمادة سكروز و(المالتيز) عند الإضافة للمادة مالتوز.

وقـد اخـتلف العـالمان لابيك وباستور عندما اعتقد الأول أن عملية التخمر تحدث نتـيـجـة تأثير بعض المواد الكيميائية المحضرة، واجتهد الثاني (باسـتور) بعدم إمكان فصل عملية التخمر عن الخلايا الحية نظراً لكونها مجموعة تفاعلات حياتية.

أمـا كلمـة الإنزيم فـقـد اقترحت من قبل الباحث كون عام 1878 وبدأت دراسـة خـصـوصـيـة الإنزيمات في نهاية القرن الماضي إذ اشترك إي فيشر (E. Fischer) عام 1894 في بحث فكرة نوعـية الإنزيم والعلاقة الفراغية بين الإنزيم والمادة الأساس.

وبدأت دراسات عزل الإنزيمات وتنقيتها عام 1920، وبدأ العالم ولستاتر عام 1922 بعزل بعضها وقام كل من كداما وديكسن عام 1926 باستخلاص الإنزيم الذي يؤكسد الزانثين. واستمر عمل الباحثين يتواصل في تطوير علم الإنزيمات وفروعه المختلفة حتى يومنا هذا. ويمكن أن نحدد على ضوء ما تقدم مفهوم الإنزيمات بأنها إفرازات بروتينية تنتج من قبل خلايا الجسم المختلفة وفق حاجة تلك الخلايا، وهي تختلف عن المحفزات غير العضوية بصفات محددة تتضمن الطبيعة الكيميائية وطريقة العمل وحركيات التفاعلات وحاجتها إلى مواد خاصة يطلق عليها بتميمات الإنزيمات.

من الصفات المهمة للخلية الحية قدرتها على القيام بالتفاعلات المعقدة في درجات حرارة محيطها، وبدون هذه الخلية فإن التفاعلات تحصل ببطء. وفي الخلية متسع للآلاف من الإنزيمات، وكل إنزيم صمم خصيصاً لأداء مهمة معينة طبقاً لقاعدة محددة داخل الخلية وعلى ضوء ذلك يمكن أن نتصور وجود هذا العدد الهائل من الإنزيمات المتخصصة في الكائن الحي والتي توفر الطريقة للتحكم في كيمياء الخلية بأقصى دقة ممكنة.

وقد عرف ازولد Oswold العامل المساعد بأنه المؤثر على سرعة التفاعلات والذي يتميز بالخصائص التالية :

1 ـ يحافظ على تركيب الإنزيم الكيميائي أثناء التفاعل، وقد تحدث فيه بعض التغيرات الطبيعية في بعض التفاعلات الخاصة.

2 ـ يسرع هذا العامل في الوصول إلى حالة التوازن Equilibrium دون التأثير على ثابتة Equilibrium Constant أو موقعه، بل يؤثر على سرعة التفاعل لكل من الاتجاهين بدرجة متساوية، وتبقى تراكيز المواد المختلفة في التوازن الكيميائي ثابتة.

3 ـ يساهم في الحصول على أبطا طاقة منشطة Activation Energy .

4 ـ يتميز هذا العامل بخصوصية تفاعله Reaction specificity حيث يتوفر عادة حافز واحد لكل تفاعل ولتفاعلات متقاربة.

الإنزيمات محفزات عضوية تنتج بواسطة خلايا الجسم المختلفة حسب إمكانية

وحاجة تلك الخلايا، وتختلف هذه المحفزات عن نظائرها من المحفزات غير العضوية بأمور متعددة منها الطبيعة الكيميائية، وطريقة العمل، وحركة التفاعلات التي تحفزها. وتتكون الإنزيمات من مواد بروتينية تختلف عن العامل المساعد غير العضوي مثل ثاني اوكسيد المنغنيز ـ البلاتين ـ النيكل ـ برادة الحديد ...الخ، وهي أكثر تخصصاً من العوامل المساعدة غير العضوية التي تدخل في تفاعلات تختلف تمام الاختلاف عن بعضها البعض. أما الوزن الجزيئي للانزيمات فهو كبير ويزيد على الوزن الجزيئي للعوامل المساعدة غير العضوية، بالإضافة إلى ذلك فإن الإنزيمات تتأثر بدرجة الحرارة وتزيد من تفاعلها عند زيادة ما يلي :

أ ـ المركبات التي لها تأثير مؤقت على التفاعل الإنزيمي، وفي هذه الحالة يستعيد الإنزيم نشاطه عند زوال المؤثر (التغير العكسي).

ب ـ أو المركبات التي لها تأثير ثابت على التفاعل الإنزيمي، ولا يستعيد الإنزيم نشاطه مرة أخرى أي إنه يعمل بطريقة عكسية.

الإنزيمات مركبات بروتينية تتراوح أوزانها الجزيئية بين 9000 إلى أكثر من مليون تذوب في الماء مكونة محاليل غروية، ومن الصعوبة النفاذ من الأغشية شبه المنفذة. ويستفاد من هذه الخاصية بفصل الإنزيمات عن الالكتروليتات، ويتم الفصل عادة بواسطة الفرز الغشائي (Disgysis). وتترسب الإنزيمات هذه بواسطة الأملاح المتعادلة مثل كبريتات النحاس .

تتركب الإنزيمات من مجموعة من الأحماض الامينية مرتبطة مع بعضها بواسطة الأواصر الببتيدية وتبعاً لهذا التركيب الكيميائي فمن الممكن تقسيمها إلى :

1 ـ إنزيمات مكونة من مادة بروتينية فقط مثل Lipase (اللايبيز).

2 ـ إنزيمات مكونة من مادة بروتينية مع مجموعة غير بروتينية الإنزيم المساعد ـ (Coenzyme).

3 ـ إنزيمات مكونة من مادة بروتينية مجموعة غير بروتينية مرتبطة ارتباطاً شديداً والتي يطلق عليها المجموعة الإضافية Prosthitic group .

الإنزيم الكامل ⟵ الجزء البروتيني + الإنزيم المساعد

(Haloenzyme) (Apoenzyme) (Coenzyme)

تسمى الإنزيمات المتكونة من مادة بروتينية مع مجموعة غير بروتينية مرتبطة.

9 - 2 البناء الكيميائي للإنزيمات وخواصها

أ ـ السلاسل الببتيدية وبناؤها المجسم:

تتكون الإنزيمات من أحماض الفـالامـينيه ترتبط ببعضها مكونة سلاسل طويلة، إضـافـة إلى ذلك يدخل في الاعـتبار البناء الكيميائي للإنزيمات، وترتيب هذه المكونات بالنسـبة لبعضها في السلسلة الببتيدية، وكذلك البناء لجسم (ثلاثي الأبعاد) في الفضاء والشكل والوضع الذي تأخـذه السلسلة البـبتـيدية للانزيم نتيجة للتوزيع الفضائي، ونتـيـجة لالتفاف السلسلة الببتيدية حول بعضها أو انعزالها ووجودها بروابط أخرى بين المجموعات الفعالة وبين أجزاء السلسة الببتيدية .

تعـتمد الإنزيمات في صفاتها الكيميائية والفيزيائية على البناء التركيبي الكيميائي، وتختلف هذه الإنزيمات بالنسبة لهذا البناء بالامور التالية:

1 ـ عدد ونوع الأحماض الأمينية المكونة والموجودة في سلسلاتها الببتيدية.

2 ـ تتابع الأحماض الأمينية في كل سلسلة ببتيدية .

3 ـ توزيع المجموعات المختلفة وكذلك الذرات الفضائية في السلسلة الببتيدية .

4 ـ تركيب الجسم ثلاثي الأبعاد لجزيئة الإنزيم.

5 ـ الشكل العام للجزيئة الإنزيمية.

6 ـ تكوين عدد من الوحدات ذات استقلال نشاطي محدود.

7 ـ تتـجمع جزيئات الوحدة الإنزيمية مع وحدات أخرى لتكوين مجموعات ذات وزن جزيئي عال.

8 ـ ارتباط الإنزيمات مع مواد غير بروتينية.

ب ـ مستويات بناء الإنزيمات :

نتيجة البحوث المتتالية وضحت أهمية الأوضاع التي تأخذها السلاسل الببتيدية في شكل مبروم حلزوني أو التفاف على بعضها، أو مع بعضها وغيرها من الأوضاع التي لها اثر كبير في سلوك الإنزيمات وخواصها.

الأواصر التي تثبت سلسلة جزيئة الإنزيم في أوضاعها :

1 ـ الأواصر الأيونية Ionic Bonds.

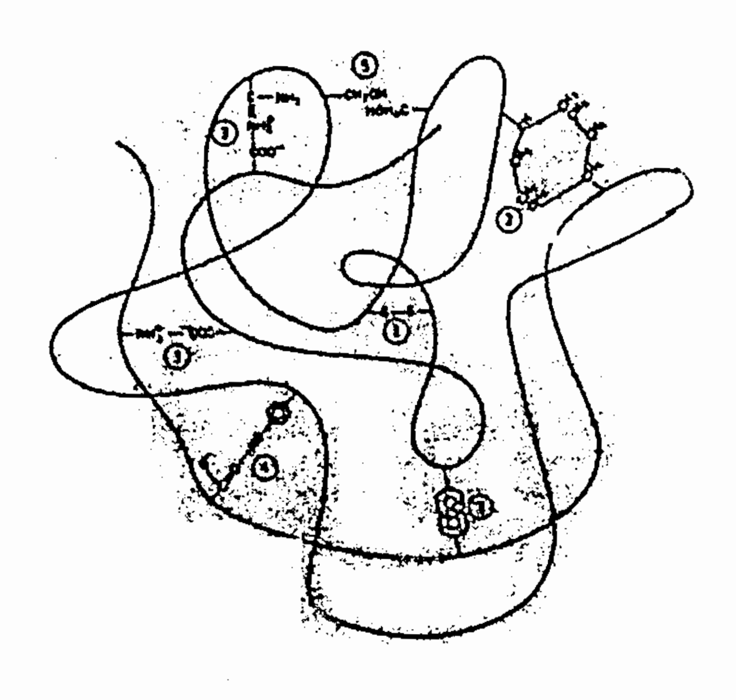
2 ـ الأواصر الهيدروجينية Hydrogen Bonds.

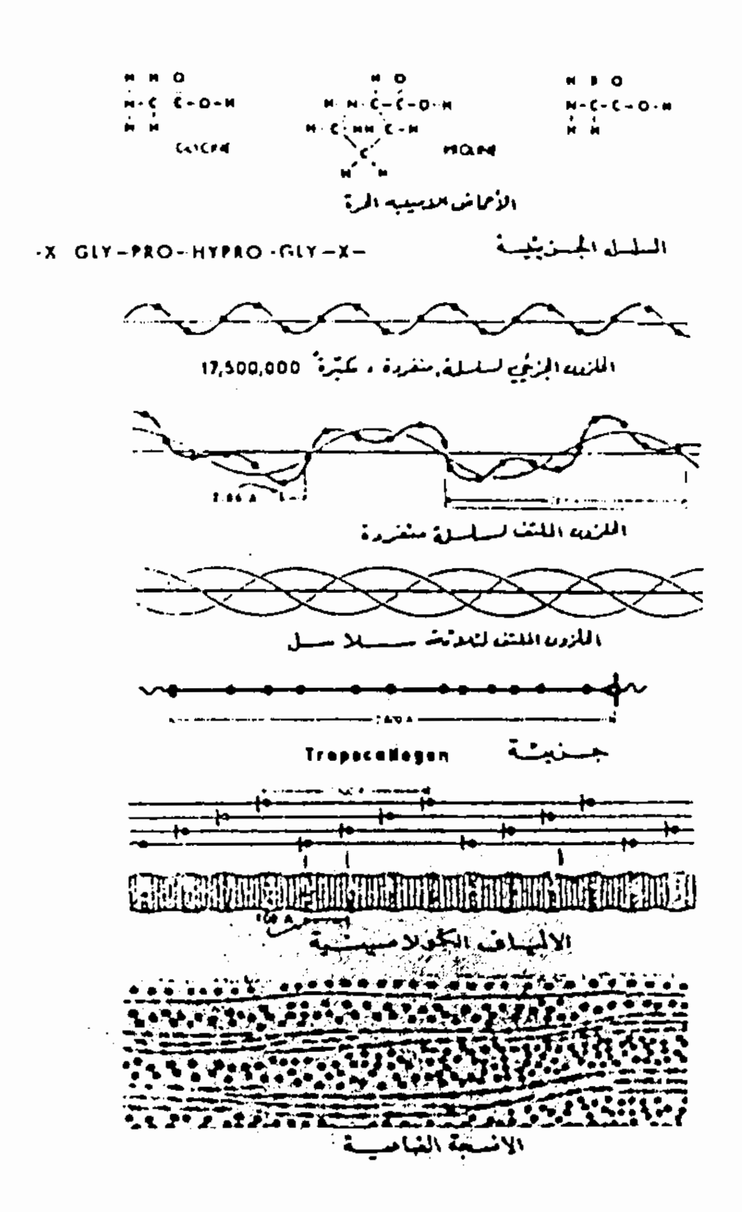
3 ـ الأواصر ثنائية الكبريتيد Disulfide Linbage.

4 ـ تجاذب فاندرفال Van Der Vall Forces.

5 ـ التصادم القطبي للمجاميع Polar Groups Interaction.

كما هو ذكور في الرسم التخطيطي ضمن الشكل التالي :





الشكل (9 - 1) : جزء من التركيب البنائي للإنزيم لا يسوزوم

البناء الأول: Primary Structure

ويحدده نوع الأحماض الامـينية وتتابع ترتيبها في السلسلة الببتيدية، وهذا البناء يمثل هيكل Backbone للسلسلة الببتيدية وما يتصل بها من ذرات ومجموعات.

البناء الثاني: Secondary structure

ويتمثل بالتركيب التكويني Conformation للسلسلة الببتيدية والتي تشمل الالتفاف مع طول السلسة او التفاف السلاسل الببتيدية مع بعضها في شكل حلزوني والتصاقها مع بعضها، وهذا يحدد التوزيع الفضائي للبذرات والمجموعات في السلسلة الببتيدية. ويثبت هذا البناء بالأواصر الثانوية التي من أهمها الآصرة الهيدروجينية ويتضمن هذا البناء السلاسل الببتيدية باشكال مختلفة وهي :

1 ـ **نموذج الفا (α Pattern)** : ويتضمن سلسلتين ببيتيديتين أو أكثر تلتف على طول بعضها التفافاً حلزونياً فتكون شكلاً حلزونياً (Helics) ، وإن طول اللفة أو البرمة الواحدة في الحلزن (3.6) وحدة حامض أميني.

2 ـ **نموذج بيتا (β Pattern)** : ويعبر عنه التركيب البسيط غير المكثف، وفيه ترتبط سلسلتان ببتيديتان مبرومتان أو أكثر على طولها دون التفاف على بعضها أو تكوين حلزوني.

البناء الثالث: Tertiary Struction

ويشمل الشكل العام المجسم ثلاثي الأبعاد للإنزيم، ويحدده التفاف السلاسل الببتيدية على بعضها، وهذا التركيب تثبته الروابط الثانوية كالآصرة ثنائية الكبريتيد والتي لها أهمية في تثبيت هذا البناء، ويمكن معرفة هذا البناء باستعمال أشعة أكس.

البناء الرابع: Quaternary Struction

وهو البناء الناتج من تجمع بعض جزيئات الإنزيم مع بعضها، ويتوقف هذا البناء على نوع البروتين ونوع الشحنات الكهربائية ودرجة حموضة المحلول، وتعمل الرابطة ثنائية الكبريتيد على تثبيت هذا البناء.

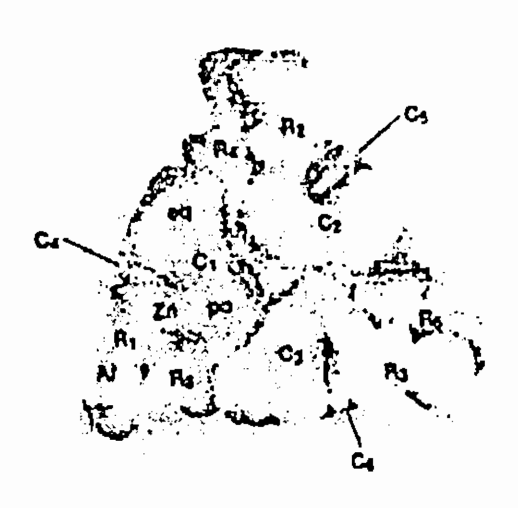
الخطوات المستعملة لقياس التركيب الأولي للإنزيمات:

أ ـ معرفة الاحماض الامينية المكونة لها :

1 ـ التحلل المائي الكامل.

2 ـ فصل نواتج التحلل المائي الكامل بالطرق الكروموتوغرافية.

3 ـ التحليل الكمي للاحماض الامينية.



الشكل (9 - 2)

الوحدة التركيبية في الشكل الرباعي للإنزيم ATCase

والرابطة الهيدروجينية أو الجسر الهيدروجيني نوع من الارتباط الذي ينتج عن التداخل الكهربائي الاستاتيكي بين جزيئات غير متأينة يجعل أحد أطرافها موجب الشجنة للطرف الثاني الذي يعتبر سالب الشحنة، وينتج عن ذلك تكون قطبين في الجزيئي غير المتأين بطريقة نسبية. والرابطة الهيدورجينة من نوع التداخل بين المركبات ثنائية الاقطاب، وفيها يحدث تجاذب لذرة الهيدروجين بواسطة درتين سالبتي الشحنة كل منهما تعمل على جذبها وتقع بينهما ذرة الهيدروجين.

ترتبط ذرة الهيدروجين بذرة النتروجين مكونة آصرة هيدروجينية، وهي خطية ذات طول 2.72 (A) وربما تستعمل لربط N—H, C=O الموجودة على نفس السلسلة أو سلسلتين لكل منهما .

الخواص الفيزياوية للإنزيمات :

ترسيب الإنزيمات بواسطة الاحماض المعقدة والقلويات :

يستعمل حامض التنكستك Tungstic في ترسيب الإنزيمات، وكذلك يمكن أن يقوم حامض الفوسفوتنكستيك Phosphotungstic بالعمل نفسه، كما يمكن استعمال الأحماض التي يطلق عليها اسم مرسبات أشباه القلويات بالعمل نفسه.

قابلية الذوبان للإنزيمات :

بعض الإنزيمات سهلة الذوبان في الماء، والبعض الآخر يذوب في المحاليل المخففة، وهناك الإنزيمات التي تذوب في القلويات، وتذوب الإنزيمات التي تحتوي على البرولين والهيدروكسي برولين في الكحولات.

وتعتمد قابلية ذوبان الإنزيمات في المحاليل المختلفة على التركيب الكيميائي لها وعلى الاس الهيدروجيني للمحاليل pH، حيث تكون قابلية الذوبان قليلة جداً في نقطة التعادل الكهربائي (Isoelectric points). وهناك عوامل متعددة تسبب التغير في طبيعة الإنزيمات مثل الحرارة، والضغط، واشعة اكس، والأشعة البنفسجية، والكحول، وأيونات المعادن الثقيلة، الرج الشديد، المذيبات العضوية ...الخ.

ان الترسيب بالتجلط غير عكسي، كما لا تذوب الإنزيمات في المذيبات التي كانت تذوب فيها قبل ترسيبها، ونصف البروتينات المتجلطة هي بازدياد لزوجتها، وقلة انتشارها، وقلة قابلية تبلورها وسهولة هضمها التي تحدث نوعين من التغيرات.

تقدير لزوجة الإنزيم وتقدير انتشار الضوء من المحاليل :

لا تقدر معظم هذه الطرق الوزن الجزيئي الحقيقي بل عدد الوحدات التي توجد في أصغر صورة ممكنة من المادة في المحلول سواء كانت أيونات أو جزيئات أو حبيبات صغيرة في نطاق المكونات الغروية.

ومن الممكن في حالة الإنزيمات المحتوية على أحد عناصر الفلزات الثقيلة تقدير أصغر وزن جزيئي يمكن أن يكون عليه الإنزيم وهو الوزن البروتيني الذي يحتوي

على ذرة واحدة من العنصر، فيجري حينئذ تقدير النسبة المئوية للعنصر في البروتين ويتبعها تقدير أصغر وزن جريئي.

صفات التاين :

يتاين الكثير من الأحماض الأمينية التابعة للإنزيمات تبعاً للمجاميع التي تحملها، وتتفاوت كل مجموعة حسب المحيط والصفات التي تحملها.

الطرق المستعملة لتغيير التركيب الطبيعي للإنزيمات :

(1) الهز البسيط أو مكوث المحلول البروتيني في درجة حرارة الغرفة لمدة طويلة.

(2) معاملة الإنزيمات مع الكحول، الاسيتون والمذيبات العضوية الأخرى.

(3) التعرض إلى الأشعة السينية أو فوق البنفسجية.

(4) عند وجود الحمض والقاعدة واليوريا، السالسيت Salicylate في المحلول الإنزيمي.

التأثيرات التي تصاحب تغير تركيب الإنزيمات الطبيعي :

1 ـ تنخفض الإذابة ونقطة تعادل الشحنة.

2 ـ فقدان نشاط البروتين الحياتي.

3 ـ زيادة نشاط بعض المجاميع مثل (SH)، ومجاميع الهيدروكسيل الفينولية.

4 ـ زيادة عدد المجاميع المتاينة.

5 ـ زيادة عدم تناسق الجزيئة.

6 ـ زيادة قابلية التحلل المائي للإنزيمات.

7 ـ فقدان خاصية التبلور.

8 ـ تكسر الأواصر الهيدروجينية.

تنقية الإنزيمات :

تعتمد عملية تنقية الإنزيم على مصدره الحياتي وعلى موقعه ضمن الخلايا أو خارجها. فيمكن تنقية الإنزيمات داخل الخلايا بصورة عامة حسب الخطوات التالية (وذلك لكسر جدار الخلية) :

1 ـ استخلاص النسيج بواسطة الماء.

2 ـ جعل النسيج متجانساً.

3 ـ تجميد المزيج المعلق وإذابته.

4 ـ معاملة المزيج المعلق بعوامل محللة (Lysing agent).

وبعد هذه الخطوات يمكن معاملة الإنزيم على أساس كون مصدره من خارج الخلية، حيث تكون محتوية على شوائب عديدة مثل الأملاح، الحوامض النووية، المواد السكرية. وقد وضعت طرائق مختلفة لتخليص الإنزيم من المواد غير البروتينية منها:

أ ـ الترسيب الجزيئي بواسطة مذيبات المواد العضوية، مثل الاسيتون ، الايثانول ، الايزوبروبانول.

ب ـ تغيير درجة الأس الهيدروجيني.

ج ـ إضافة الاملاح مثل سلفات الأمونيوم.

ان عملية التجزئة بواسطة تغيير درجة الأس الهيدروجيني تعتمد على خاصية إذابة البروتين في درجة تعادل الشحنة (Isoelectric point) أو قلة إذابة الشوائب في درجة أس هيدروجيني معين، فالأحماض النووية يمكن فصلها عن البروتينات بدرجة اس هيدروجيني 5.5، وتستعمل طريقة الامدصاص للتخلص أيضاً من المواد الشائبة فوق سطوح مواد لا تذوب ولا تتفاعل معها مثل، هلام فوسفات الكالسيوم هلام (Ca Phosphate Gel)، والفحم الفعال يمكن استعماله كمادة ممدصة أيضاً.

تحضر الإنزيمات بطرق متنوعة معتمدة على توفرها، وبصورة عامة فإن أهم الطرق التي يمكن ابتاعها للحصول على الإنزيمات هي جمع السوائل التي تتوفر فيها الإنزيمات والحصول عليها بعد إجراء عملية تحلل ذاتي للأنسجة، أما لتنقية الإنزيمات، فهناك طرق عدة منها:

1 ـ طريقة الامدصاص الكروموتوغرافي — Adsorption chromotography

2 ـ الترسيب الجزيئي — Fractional precipitation

3 ـ استخدام الآلة الطاردة المركزية ذات السرعة العالية. Ultracentrifugation

4 ـ استخدام أجهزة الهجرة الكهربائية للدقائق المعلقة. Electropho resis

5 ـ طريقة الترشيح خلال الجل: وهي عملية فصل عدة بروتينات ذات اوزان جزيئية عالية اعتماداً على حجم جزيئاتها في المحلول. Gel Filtration

6 ـ التبادل الايوني: وهي عملية فصل عدة بروتينات اعتماداً على درجة الأس الهيدروجيني والقوة الايونية للمحلول الناضح. Ion exchange

7 ـ التركيز المتكامر: وهي عملية الهجرة الكهربائية في درجة أس هيدروجيني متدرج.

8 ـ التجزء الملحي. Salt fractionation

9 ـ الاستخلاص بالمذيبات العضوية. Organic solvent extraction

10 ـ الفرز الغشائي Dialysis

9 - 3 تفاعل الإنزيمات

تحدث التفاعلات بتأثير الإنزيمات حسب الخطوات التالية :

1 ـ تتحد المادة المتفاعلة مع الإنزيم مكونة مركباً وسيطاً يسمى بالإنزيم المادة الأساس Enzyme- Substrate complex.

2 ـ يتحلل المركب الوسط ويكون نواتج التفاعل ويتحرر الإنزيم.

ويحدث التفاعل بين الإنزيم والمادة الأساس عن طريق المراكز النشطة الموجودة على سطح الإنزيم، وقد وضعت عدة نظريات لتوضيح عملية الاتحاد هذه.

وهناك أدلة كثيرة تثبت تكوين هذا المركب الوسطي المعقد، فمثلاً الإنزيم Catalase بني اللون يقوم بتحويل فوق أوكسيد الهيدروجين إلى ماء وأوكسجين ذري حسب التفاعلات التالية :

$$CATALASE + H_2O_2 \longrightarrow CATALASE + H_2O_2$$

$$CATALASE - H_2O_2 \longrightarrow CATALASE + H_2O + O$$

ويلاحظ أن اللون البني هو لون الإنزيم. أما اللون الاحمر فهو لون المعقد الإنزيم ـ المادة الأساس.

إضافة إلى ذلك تستعمل الطرق الطيفية أيضاً لقياس الإنزيم ـ المادة الأساس المعقد، إضافة إلى ذلك فالإنزيم يكون مركباً وسطياً معقداً مع مواد أخرى تشابه المادة الأساس وتقوم بتشبيط تفاعله، ولا يعطي الناتج الحاصل من تفاعل المادة الأساس.

حركيات الإنزيمات :

تعد الإنزيمات محفزة للتفاعلات غير المتجانسة، وتتميز بالصفات العامة للمحفزات يضاف إليها صفات خاصة بها تتضمن:

أ ـ تقليل الطاقات الحرة التابعة لتفاعلات معينة.

ب ـ اعتماد التفاعل عند بنائه على تركيز المادة الأساس.

ج ـ اختلاف الإنزيمات عن المحفزات الأخرى بكونها تعتمد اعتماداً جوهرياً وأساسياً على الأس الهيدروجيني وعلى درجة الحرارة .

د ـ لكل إنزيم مادته الأساس الخاصة به.

هـ ـ التسريع في الحصول على التوازن دون التأثير على ثابته ولا على موقع التوازن.

النشاط الإنزيمي :

عند قياس النشاط الإنزيمي يتطلب الأمر تقدير الزمن اللازم لتكوين كمية معينة من التغيير في الصفة الخاصة وحسب الظروف القياسية، ويستفاد من التغيرات التي تحدث في الصفات الطبيعية أو الكيميائية للمواد الأساس المتفاعلة (كالتغيرات في

اللزوجة، ودرجة التحويل الضوئي، ومعامل الانكسار، وتكوين مواد لها تفاعلات مميزة) في قياس نشاط الإنزيمات.

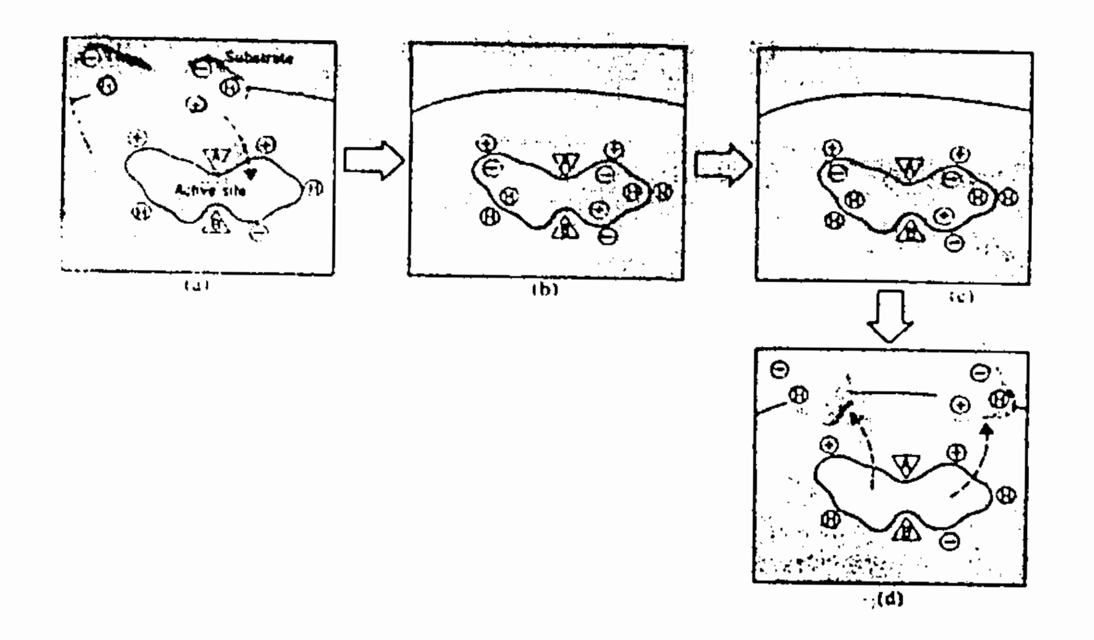
ويعبر عن نشاط الإنزيم بوحدات معينة عن طريقها تقاس كمية الإنزيم وفاعليته. والوحدة العالمية الإنزيمية عبارة عن كمية الإنزيم التي تحول مايكرومولا واحداً من المادة الأساس في الدقيقة الواحدة باللتر بظروف قياسية محددة. وتستعمل طرقٌ عدة كما ذكرنا لقياس النشاط الإنزيمي منها : الطرق الطيفية، والإشعاعية.

نظرية القفل والمفتاح Lock and Key theory

بسبب خصوصية الإنزيم، فإنه يتحد مع مادة معينة، حيث يؤثر المفتاح على قفل واحد فقط. وليس كل المجموعات الموجودة بجزيء الإنزيم تدخل في التفاعل المحفز بل إن ما يدخل منها هي المراكز النشطة.

في التفاعل المحفز بالإنزيمات تحرر المواد المتفاعلة طاقة تساوي أو تزيد على طاقة التنشيط اللازمة للتفاعل، وإن الإنزيمات تعمل على خفض طاقة التنشيط هذه، فمثلا عند تحلل فوق أوكسيد الهيدروجين بدون عامل مساعد، تكون طاقة التنشيط مساوية لـ 18.000، وتنخفض هذه عند وجود البلاتين كعامل مساعد إلى 12.000، بينما في حالة وجود الإنزيم Catalase تصبح هذه الطاقة 2000 سعرة في الوزن الجزيئي الغرامي.

تعتمد هذه النظرية على التكامل الشكلي بين الإنزيم والمادة الأساس التي اعتمدها اميل فشر. ويوضح الشكل التلاحم بين الإنزيم والمادة الأساس وفقا لنموذج المفتاح والقفل لفشر، حيث أن للمادة الأساس مناطق قطبية وغير قطبية تنجذب فيها المناطق اللاقطبية وتتحدد مع المركز النشط الذي يكون متممًا لها في كل من الشكل والشحنة (الشكل a و b). تتكون المناطق اللاقطبية وكذلك ذات الشحنة الموجبة والسالبة من السلاسل الجانبية للمكونات الملامسة، والتي تضع المادة الأساس بوضعية تجعلها تقوى على الالتحام مع الموقع التحفيزي. بعد حصول عملية التحفيز (c)، تتحرر المنتوجات من المركز النشط (a)، وبالتالي تحرر الإنزيم للقيام بجولة أخرى للتحفيز (الشكل 9 - 3).



الشكل (9 - 3) نظرية القفل والمفتاح عن: Cell Biology by Sheeler

(a) للمادة الاساس والمركز النشط اشكال مختلفة إلا أنها متممة.

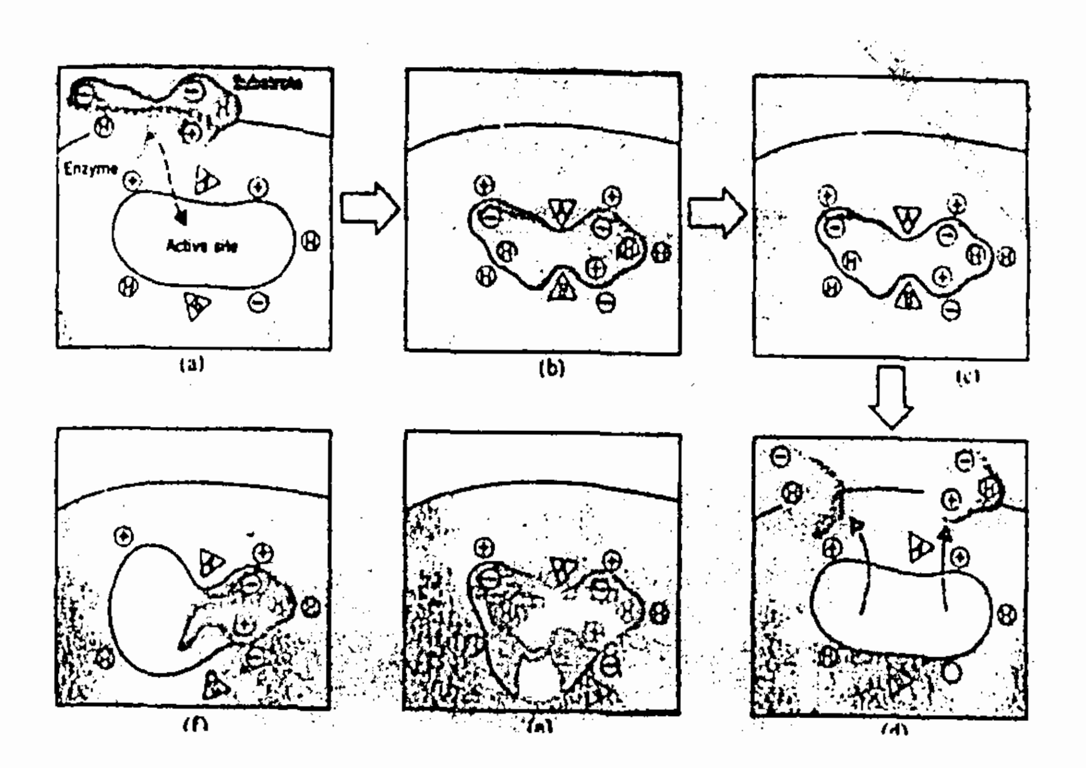
(b) يعتبر الشكل المكونات التحفيزية لتغير الاواصر في المادة الأساس.

(c) تتحرر النواتج ويرجع المركز النشط إلى حالته الاصلية.

في بعض الإنزيمات تتشابه مواقع الارتباط مع المواد الأساس بما يشبه تقبل القفل لمفتاح واحد أو عدد قليل من المفاتيح، فعند استقرار المادة الأساس على هذه المواقع، تقوم قوى التجاذب بعملية سحبها إلى أسفل لتسبب في وضع إجهاد على اواصر المادة الأساس، ويؤدي هذا الإجهاد إلى إعادة ترتيب الأواصر الكيميائية.

فرضية كوشلاند (التوافق المستحث Induced Fit)

يوضح الشكل (9 - 4) فرضية كوشلاند التي تعتمد على التصور الذي يحدد فيه الاختلاف في شكل المركز النشط والمادة الاساس (a) إلا أنهما يصبحان متممين بعد ارتباط المادة الأساس (b) . إن التغير في الشكل يضع المكونات التحفيزية في موقع لكي يغير الأواصر في المادة الأساس (c). يتبع ذلك تحرير نواتج التفاعل (d) ويرجع المركز النشط بعد ذلك إلى حالته الاولية.



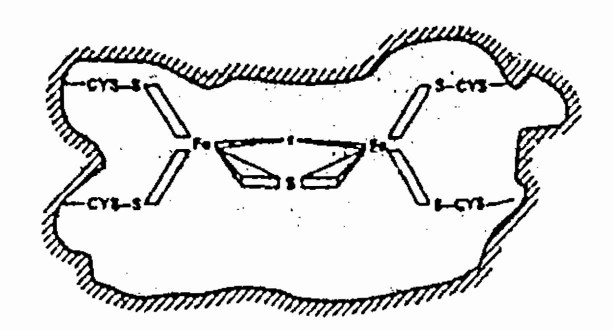
الشكل (9 - 4) فرضية كوشلاند

عن: Cell Biolougy by Sheeler

تحدث تطبيقات هذه الفرضية عندما تكون الإنزيمات غير متشابهة في مواقع ارتباطها مع المواد الأساس، حيث تجذب المواد الأساس الأشكال المشابهة وليس بالضرورة ذات الأشكال المتطابقة، ويكون الجذب عن طريق أواصر ضعيفة.

دور الفلزات في تفاعلات الأكسدة والاختزال :

تقوم ذرتان من الحديد بالارتباط مع البروتين عبر مجاميع السلفاينيل، حيث تقوم بتكوين جسور بواسطة السلفايدات (Sulfides)، حيث يتحرر سلفايد الهيدروجين بعد تحميض البروتين:



التفاعلات البسطة أحادية المادة الأساسية :

طريقة هنرى وميكابلس ومنتون للتوازن السريع

Asimple unireactant system- Rapid equilibrium Approach (Henri, Michaelis, and Menten) :

وتشـمل التـفـاعل المبـسط والمحـفـز إنزيمـيـا وتحول مادة أساسية منفردة إلى الحاصل. ويطلق على هذه الطريقة الواحدة (Uni Uni) حسب تسمية Cleland، ويمكن كتابة ترتيب التفاعل حسبما يأتي :

$$E + S \underset{K_{-1}}{\overset{K_1}{\rightleftharpoons}} ES \underset{K_{-2}}{\overset{K_2}{\rightleftharpoons}} EP \underset{K_{-3}}{\overset{K_3}{\rightleftharpoons}} E + P \quad .... (1)$$

وتسـمى كل من EP, ES وبالمعـقدات المركزية Central complexes، ولتبسيط ذلك، سنفـرض وجـود مـعـقـد جـزء واحد يتميز تفاعله العكسي بأهمية قليلة حركياً، وتنطبق الفـرضـيـة الأخيرة على السرعـة الأوليـة في التـفاعل الأمامي وقبل أن تتجمع كميات لا بأس بها من الحاصل. يمكن كتابة التفاعل حسبما يأتي :

$$E + S \underset{K_{-1}}{\overset{K_1}{\rightleftharpoons}} ES \overset{K_p}{\rightleftharpoons} E + P \quad .... (2)$$

وعلى ضوء ذلك يمكن اشتقاق معادلة السرعة تحت ظروف التوازن السريع، حيث يتوازن كل من ES, S, E بسرعـة مع معدل السرعة التي يتحلل فيها الـ ES في E+ P. وتعتمد السرعة في أي وقت على تركيز الـ ES:

$$v = K_p \text{ (ES)} \qquad \text{......................} (3)$$

حيث Kp ثابت معدل السرعة التحفيزي "Cataytic rate constant" . ويتوزع الإنزيم الكلي بين ES، E كما يلي :

$$[E]_t = [E] + [ES] \qquad \text{......................} (4)$$

وعند تقسيم المعادلة المعتمدة على السرعة بـ$[E]_t$، حيث تستعمل [E] + [ES] في الجانب الأيمن من التفاعل، نحصل على :

$$\frac{v}{[E]_t} = \frac{K_p [ES]}{[E] + [ES]} \qquad \text{......................} (5)$$

وبسبب فرضية التوازن Equilibrium assumption، يمكن التعبير عن ES بالتعابير Ks, E, (S) ، حيث Ks هو ثابت التحلل للمركب المعقد ES :

$$K_S = \frac{[E]\ [S]}{[ES]} = \frac{K_{-1}}{K_1} \qquad \text{......................} (6)$$

$$[ES] = \frac{[E]}{K_S} [E] \qquad \text{......................} (7)$$

وعند التعويض عن [ES] نحصل على :

$$\frac{v}{[E]_t} = \frac{K_p \frac{[S]}{K_S} [E]}{[E] + \frac{[S]}{K_S} [E]} \qquad \text{......................} (8)$$

وعند ضرب الجهتين بـ Kp وحذف E نحصل على :

$$\frac{v}{K_p [E]_t} = \frac{\frac{[S]}{K_S}}{1 + \frac{[S]}{K_S}} \qquad \text{......................} (9)$$

فإذا كان : $v = K_p \text{ (ES)}$

فإن $$K_p (E)_t = V_{max} \qquad \text{.......... (10)}$$

وهي السرعة التي يمكن الحصول عليها عندما يصبح الإنزيم بقدر ES :

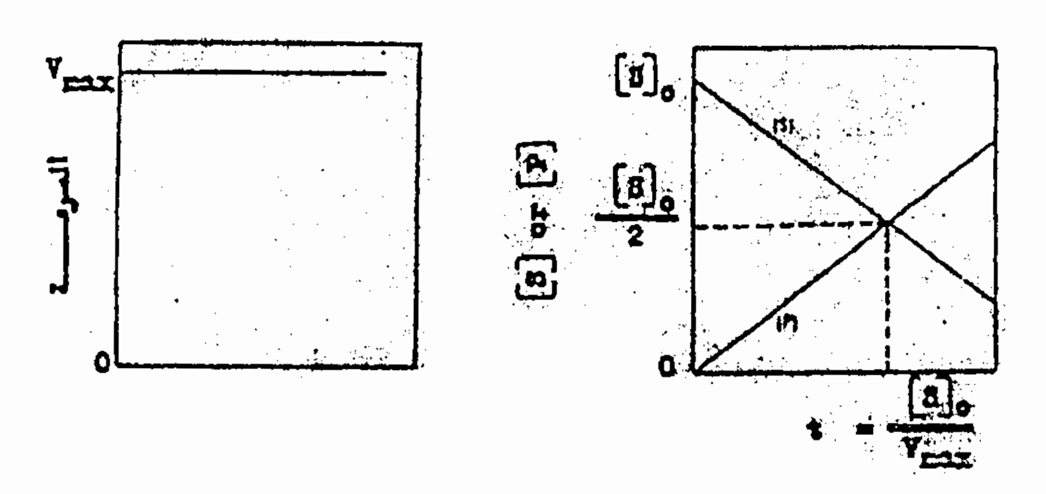
$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{\frac{[S]}{K_S}}{1 + \frac{[S]}{K_S}} \qquad \text{...................... (11)}$$

ويمكن إعـادة ترتيب مـعـادلة السرعـة للتـفاعلات البسيطة ذات المادة الأساسية الواحدة (Simple unireactant system) لتعطي معالة ميكايلس ـ منتن الأكثر تداولاً

$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{[S]}{K_S + [S]} \qquad \text{...................... (12)}$$

وترتبط المعادلة Henri- Michaelis- Menten، السرعة الأولية Initial velocity مع السرعة العظمى Vmax بتركـيـز معين من المادة الأساسية، والمعادلة صحيحة فقط عند القـيـاس بوقت قصير جداً، لذا تبقى (S) ثابتـة حين يتطلب اسـتعمال 5% مـن المادة الأساسية فقط.

تعطي هذه العلاقة رتبة الصفر :



انظر إلى: Biochemical Calculstions 2nd edition, Irwin H. Segal

حركيات رتبة الصفر Zero-order Kinetics

عندما تكون المادة الاساسية أكبر بكثير من Km <<< S ، يهمل الـ Km في المقام "denominator" لمعادلة ميكاليس ـ منتون "Henri-Michaelis-Menten" ويمكن أن نبسط هذه المعادلة إلى :

$$V = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]} \xrightarrow{[S] >>> K_m} \frac{V_{max}[S]}{[S]}$$

$$\therefore V = V_{max}$$

ومن ناحية عملية، فالسرعة ثابتة وغير معتمدة على S، ونحصل على خط مستقيم عند رسم العلاقة بين S والوقت و P ضد الوقت.

حركيات الرتبة الأولى First-order Kinetics

يمكن اشتقاق العلاقة الخطية بين S, v عندما يكون Km >>> S من معادلة "Henri-Michaelis-Menten"

$$V = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]} \qquad \text{......................} \quad (1)$$

وعندما يكون Km >>> [S] يمكن إهمال الـ [S] في المقدار واختصار المعادلة إلى :

$$v = K(S)$$

0.06
0.04
0.02
الرتبة الأولى
0
0.02
0.04
تراكيز المادة الأساس واطئة

الشكل (6 - 9)

انظر الى : Biochemical calculations 2nd edition

$$V = K(S) \qquad \qquad \text{......................} \quad (2)$$

حيث k عبارة عن ثابت معدل سرعة الرتبة الأولى للتفاعل بصورة عامة، وإن وحداته هي min^{-1} أو 1/دقيقة. فعند التعبير عن السرعة v بـ $moles \times liter^{-1} \times min^{-1}$ والـ Km بـ moles/leter (مول/اللتر/الدقيقة) فـ :

$$K = \frac{V_{max}}{K_m} = \frac{\text{مول/اللتر/الدقيقة}}{\text{مول/اللتر}}$$

$$= \frac{moles \ x \ liter^{-1} \ x \ min^{-1}}{moles \ x \ liter}$$

$$= \frac{moles}{(liter)\,(min)} \ x \ \frac{liter}{moles}$$

$$= \frac{1}{min} = \frac{1}{\text{دقيقة}}$$

تعبر المعادلة عن الحالات التي يكون فيها الـ S صغير جداً، حيث السرعة المطلقة تتناقص من لحظة إلى أخرى عند تناقص S.

وبصورة عامة، ففي أية لحظة، يتحول الجزء الثابت من المادة الأساسية إلى الحاصل:

$$\frac{-d\ [S]}{dt} = v = K\,[S] \qquad \qquad \text{......................} \quad (3)$$

$$\frac{-d\ [S]}{dt} \quad = \quad v \quad = \quad K \quad [S] \qquad \qquad \text{......................} \quad (4)$$

كمية المادة الأساسية التي تستعمل بزيادة صغيرة من الوقت	السرعة	الجزء الثابت	من المادة الأساسية الموجودة في وقت معين

أو

$$\frac{-d\ [S]\ /\ [S]}{dt} =$$

وبسبب نقصان السرعة V مع الوقت في منطقة الرتبة الأولى "First- order region"، يمكن الحصول على الاشكال البيانية التي تمثل [S] ضد الوقت والـ [P] ضد الوقت. ويمكن قياس كمية المادة لاساسية المستعملة والحاصل المتكون خلال وقت معين باستعمال معادلة معدل السرعة للرتبة الأولى المتكاملة "Integrated first-order- rate equation".

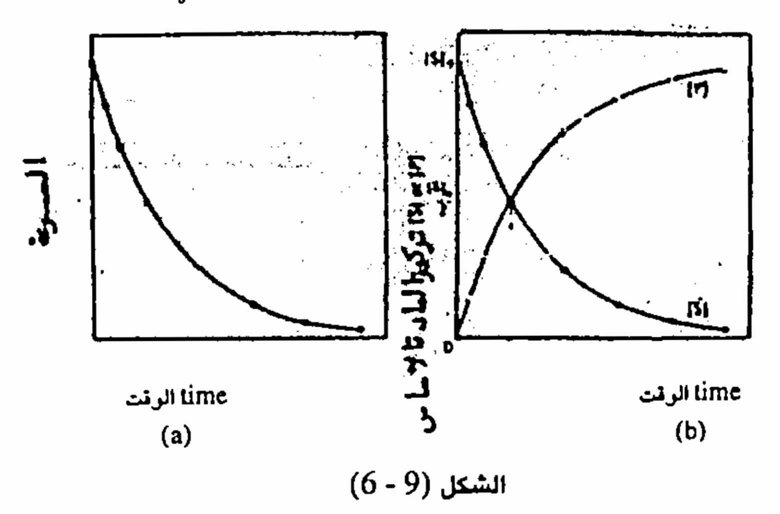
$$v = - \frac{d[S]}{dt} = K[S] \qquad \text{.......................} \; (5)$$

أو

$$- \frac{d[S]}{dt} = K\,dt \qquad \text{.......................} \; (6)$$

فالتكامل بين اثنين من تراكيز المادة الأساسية المختلفة $[S]_0$ و $[S]$ والوقت t_0 و t .

$$\int_{[S]_0}^{[S]} \frac{d[S]}{[S]} = K \int_{t_0}^{t} dt \qquad \text{.......................} \; (7)$$



الشكل (9 - 6)

$$\ln \frac{[S]_0}{[S]} = K(t - t_0) \qquad \text{.......................} \; (8)$$

أو

$$2.3 \log \frac{[S]_0}{[S]} = K(t - t_0) \qquad \text{.......................} \; (9)$$

فإذا كان $[S]_0$ = تركيز المادة الاساسية الاولى (concinitial substrate).

t_0 = «الوقت صفر» Zero time .

فيمكن كتابة المعادلة أعلاه :

$$2.3 \log \frac{[S]_0}{[S]} = Kt \qquad \text{.......................} \; (10)$$

حيث t = elapsed time (الوقت المار).

[S] = تركيز المادة الاساسية بالوقت t.

ويمكن كتابة المعادلة حسبما يأتي :

$$[S] = [S]_0 \; e^{-Kt}$$

ويمكن إعادة تنظيم المعادلة (10) لتصبح :

$$\log [S] = - \frac{k}{2.3} \; t + \log \; [S]_0 \qquad \text{.......................} \; (1)$$

لذا فرسم «لوغاريتم» [S] ضد t يعطي خطاً مستقيماً linear ذا ميل يبلغ (- K/2.3) وبقاطع intercept يبلغ log [S] على محور log [S] . وعندما يكون لوغاريتم [S] = صفر فالقاطع intercept مع محور t يعطي 2.3 log [S]0/K وعندما يكون $[S] = \frac{1}{2} [S]_0$ فـ t = نصف الوقت half-life ($t\frac{1}{2}$).

بمعنى آخر وحسب التعريف فإن :

$$Q^{10} = \frac{K_1 + 10^0}{K^S} \qquad \text{.......................} \; (2)$$

$$E = \frac{RT^2 \; 1n \; Q_{10}}{10} \qquad \text{.......................} \; (3)$$

وتقع معاملات درجة الحرارة "temperature coefficient" للتفاعلات الإنزيمية بين 4, 2, 1 من الملامح العامة للتحفيز وقوع معامل درجة الحرارة للتفاعلات المحفزة أقل من التفاعلات غير المحفزة والتفاعلات الإنزيمية المحفزة أقل من تلك المحفزة بالعوامل المساعدة اللاعضوية.

معادلة ارهينويوس Arhenius equation - Energy of activation

توضح معادلة ارهينويوس العلاقة بين ثابت معدل سرعة "rate constant" للتفاعل K والطاقة المنشطة "Ea"activation energy

$$K = Ae^{-KaRT}$$

$$\log K = - \frac{Ea}{2.3\,RT}\ \frac{1}{T} + \log A$$

ويعتبر A ثابتاً لتفاعل معين، وعند رسم log K ضد 1/T نحصل على رسم خطي linear .

أما عند تكامل معادلة ارهينوس "Integrated" فإننا نحصل:

$$\log \frac{K_2}{K_1} = \frac{Ea}{2.3\,R}\left(\frac{T_2 - T_1}{T_2 T_1}\right)$$

أو

$$Ea = \frac{2.3\ RT_2\,T_1}{(T_2 - T_1)}\ mog\ \frac{K_2}{K_1}$$

حيث كل منK2, K1. ثوابت معينة لمعدل السرع للتفاعل "specific reaction rate constants" بدرجتي حرارة T1, T2 بالتعاقب.

ففي تفاعل التوازن السريع والبسيط "simple rapid equilibrium system" تبلغ قيمة ثابت معدل السرعة للرتبة الأولى $V_{max}/[E]_t = (Kp)$ وعند رسم $\log V_{max}/[E]_t$ ضد 1/T نحصل على Ea ويمكن رسم log Vmax فقط، حيث تتناسب الـ Vmax مع الـ Kp. . وبالنظر لاعتماد قيمة الـK_m على الـ T واختلافها معه لا يمكن أن نفرض بأن تركيزاً معيناً من المادة الاساسية يكون مشبعاً في جميع درجات الحرارة وبصورة مثالية. ويمكن قياس V ، Vmax من الرسم العكسي بكل درجة حرارة وفي معظم التفاعلات الإنزيمية تعتمد الـ Vmax على ثوابت معدل سرع مختلفة كل واحدة منها تتأثر بصورة مختلفة بتغيير درجة الحرارة، وبالنتيجة فالـ Ea المحسوبة من

رسم ارهينوس يمكن عدها ظاهريا إذ تمثل المعدل زيادة على ذلك، ويمكن أن يكون رسم ارهينوس نفسه غير خطي nonlinear إذا أصبحت مختلفة ذات معدل سرعة محدد "rate limiting" ودرجات حرارة مختلفة. وفي بعض الحالات يمكن أن يكون الرسم حاد التغير "Sharp change" في ميله في بعض درجات الحرارة (Transition temperature) ، حيث تتغير الـ Vmax من خطوة معدل السرعة المحددة إلى الأخرى أما الانخفاض المفاجيء في رسم ارهينوس فيعني تغيير الشكل الطبيعي للبروتين.

درجة الأس الهيدروجيني :

بصورة عامة، تكون الإنزيمات نشيطة في مدى محدود من الرقم الهيدروجيني ويلاحظ في معظم الحالات وجود درجة أس هيدروجيني عظمى للإنزيم، وقد يعود هذا إلى التاثيرات المتباينة على الإنزيم كفقدان النشاط (inactivation)، وميل الإنزيم تجاه المادة الأساسية، أو درجة الاس الهيدروجيني على السرعة العظمى للتفاعل.

وقد تؤثر درجة الأس الهيدروجيني على حالة التاين لمكونات التفاعل الإنزيمي، مثل الإنزيمات المواد الأساسية والإنزيمات المساعدة.

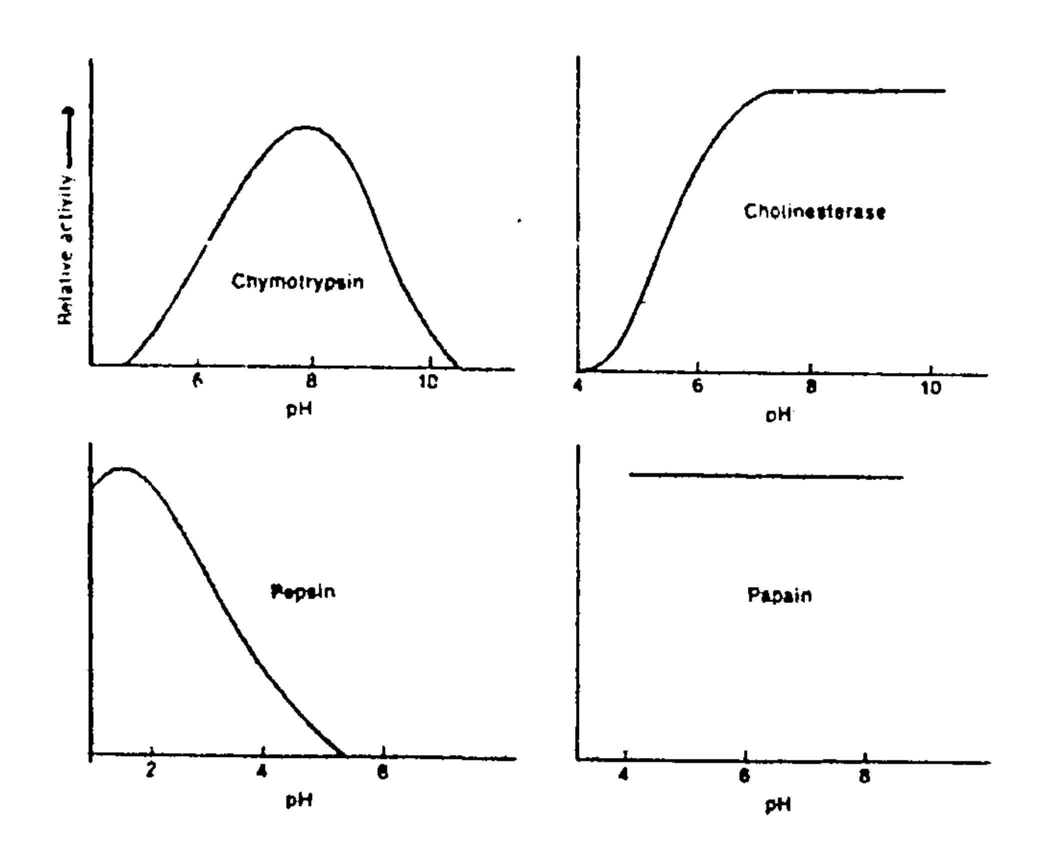
لكل إنزيم مجاميع متعددة بعضها حامضي والآخر قاعدي وتتاثر باختلاف درجة الأس الهيدروجيني، فبعضها مثلاً يكون بصيغة لا تحتوي على بروتينات (مثل اسبارتيت كلوتاميت) أو يكون بصيغة تحتوي على بروتينات كافية (مثل الارجنين اللاليسين). وعندما تكون درجة الاس الهيدروجيني متعادلة، فإن هناك عدة مجاميع لها قيم درجة الاس ثابت التفكك (PK) في مدى 5-9 (مجاميع الامادازول لحمض الهستيدين ومجموعة الـ SH....الخ)، وتتغير حالة التأين للمجاميع عند تغير درجة الأس الهيدروجيني .

تاثير درجة الأس الهيدروجيني على ثبوت ونشاط الإنزيم

Effect of pH on Enzyme stabilithy and activrty:

تؤثر درجة الأس الهيدروجيني في سرعة التفاعلات الإنزيمية، حيث إن المراكز النشطة (active sites) من مجاميع متباينة يجب أن تكون على شكل أيوني ملائم

للتفاعل ومن أجل أن يحافظ على وضعية "confomation" للمركز النشط وعلى ارتباطه بالمادة الأساسية، زيادة على ذلك تمتلك المواد الأساسية نفسها مجاميع متاينة شكل واحد منها يرتبط بالإنزيم. ويمكن قياس الـ pK للمجاميع في المركز النشط، وبعد ذلك نستطيع أن نتعرف على المجاميع الوظيفية الموجودة منه.



وفي حالات كثيرة تسبب المادة الاساسية تغيرات وضعية "confomational" للإنزيم لتكون شكلاً اكثر مقاومة لدرجة الاس الهيدروجيني أو درجة الحرارة التي تسبب تغيراً في الشكل الطبيعي "denaturatiin" . ويمكن أن يكون تركيز الإنزيم نفسه عاملاً مؤثراً في تحديد هذه التاثيرات، ففي التراكيز الواطئة ربما يتحلل الإنزيم إلى وحدات صغيرة أحادية أو متحدة، زيادة على ذلك يمكن ان يكون الإنزيم ثابتاً لفترة زمنية طويلة بدرجة الاس الهيدروجيني من الدرجة العظمى المستعملة في الاختبار.

4 - 9 تثبيط الإنزيم Enzyme Inhibition

تسمى المادة التي تستطيع خفض سرعة التفاعل الإنزيمي بالمثبط (Inhibitor) ويعتبر التثبيط بحد ذاته من الأجهزة المنظمة في الخلايا الحية، ومن الطرق المهمة للتشخيص، وتوفر لها دراسات التثبيط معلومات عن خصوصية (specificity) الإنزيم والبناء الكيميائي والفيزيائي لمركزه النشط، وكذلك الآلية الحركية للتفاعل، ومن الأمثلة العملية لاستعمالات التثبيط هي طريقة عمل الأدوية واستعمالات المضادات الحية، والحافظات preservative ، السموم، والتوكسينات.

أولا ـ التثبيط التنافسي Competitive inhibition

المثبط التنافسي هو المادة التي تستطيع الاتحاد مع الإنزيم الحر لمنع ارتباط المادة الاساسية، أي تنافس كل من المادة الاساسية أو أحد المواد الموجودة في الخلية أو في مادة اساسية أخرى، أو حاصل التفاعل. فحامض المالونك (Malonic acid) هو أحد المثبطات التنافسية التقليدية التي تثبط الإنزيم (Succinic dehydrogensse) الذي يحفز أكسدة حامض الـ succinic إلى حامض الـ fumaric.

من الأمثلة التقليدية على التثبيط التنافسي هي الأدوية السلفونية (sulfo Drugs)، حيث تؤدي عقاقير السلفا عملها بواسطة التداخل مع البناء الحياتي لحامض الفولك، حيث يظهر أن الانسان يحصل على حاجته من حامض الفولك الذي يعتبر هو الآخر فيتاميناً مهماً .

يتضح أن الادوية السلفونية شكلاً يشبه جزءاً من المركب حامض الفولك المتمثل بـ (Para - aminobenzoic acid) مما يؤدي إلى استعمال جزيئة السلفاناميد لبناء حامض الفولك، وبالتالي تتوقف عندئذ عملية حياتية مهمة في الجرثومة، وبالتالي تموت:

$$E + S \underset{}{\overset{K_s}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{K_p} E + P$$

$$+ I$$

$$\Updownarrow \qquad K_i = \frac{[E]\ [I]}{(RI)}$$

$$EI$$

وتتناسب السرعـة الأوليـة للتـفـاعل مع تركـيز الحالة المستقرة (concsteady - state) الإنزيم ـ المادة الأسـاسية (ES) وتتـمـيز التفاعلات جميعها بعكسيتها، فعليه يمكن التوقع في حال استعمال تركيز المثبط فوق المشبع ما يأتي:

أ ـ السرعـة عند وجـود المثـبط التنافسي (V_i) يسـاوي السرعـة عند عدم وجود المثبط التنافسي ويتطلب تركـيـزاً عـالياً من المادة الاساسية من أجل الحصول على نفس تركيز ES.

ب ـ أما عند وجود تركيز عال من المادة الأساسية فيتجه الإنزيم لتكوين الـ ES.

ولذلك فالسرعة العظمى (Vmax) عند وجود المثبط تساوي السرعة العظمى (Vmax) عند غياب هذا المثبط، اما الـ K_m^s الظاهرس (الذي يقاس لـ S المطلوبة للحصول على نصف السرعة العظمى $\frac{1}{2}$Vmax) فـسـتـزداد عنـد وجـود المثبط التنافسي فيكون سبباً لوجـود جزء من الإنزيم بشكل EI في أي تركـيـز من تراكيز المثبط، وليس لهذا المعقد ميل لـ S. تشـتق مـعادلة السرعة بالطريقة الاعتيادية لظروف التوازن السريع (rapid equilibrium conditions) فيتوزع الإنزيم تبعاً لذلك على ثلاثة أنواع:

$$v = K_p [ES] \quad \frac{v}{[E]_t} = \frac{K_p [ES]}{[E] + [ES] + [EI]}$$

$$[ES] = \frac{[E]}{K_S} [E] \qquad [EI] = \frac{[I]}{K_i} [EI]$$

$$\frac{v}{K_p [E]_t} = \frac{\frac{[S]}{K_S} [E]}{[E] + \frac{[S]}{K_S} (E) + \frac{[I]}{K_i} (E)}$$

أو

$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{\frac{[S]}{K_S}}{1 + \frac{[S]}{K_S} + \frac{[I]}{K_i}}$$

وعند دراســة موازنة المعادلة السابقة بمعادلة السرعة الاعتيادية، نجد أن المقام قد ازداد بـ $\frac{I}{K_i}$ الذي يمثل المقعد EI ، زيادة على ذلك، فالمعادلة تحمل ES . ومن أجل الحصول على الشكل المقبول للمعادلة يضرب كل من البسط والمقام بـ Ks :

$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{S}{K_S\,(1 + \frac{(I)}{K_i}) + (S)}$$

ومن اجل الحـصـول على مـعـادلة السرعة النهائية لظروف حالة الاستقرار تحل معادلة Km محل Ks، وتختلف مـعـادلة السرعـة عن معادلة Michaelis - Menten، حيث يكون الــ Km. مضروبا بالعامل $(1 + \frac{I}{K_i})$ وأن الـVmax لا يتأثر بـ المثبط الـتـنافسي، بينما تزداد سرعـة الـ Km الـظاهري، ويوضـح الشكل الآتي تأثير المثـبط التنافسي على معدل السرعة، وذلك برسم العلاقة بين V ضد S.

إن الشكل العكسي لمعادلة التثبيط التنافسي يتمثل بما يأتي :

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{max}}\,(1 + \frac{I}{K_i})\,\frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

الشكل (9 - 7) ـV ضد [S] بوجود وغياب تركيز ثابت من المثبط التنافسي.

حيث يزداد الميل بالعامل Ki + (1 + I) الذي يضرب الــ Km في المعادلة الاولية، بينما يبقى التقاطع intercept يتمثل Vmax + 1 على المحور $\frac{1}{v}$ كما هو.

ثانيا ـ التثبيط غير التنافسي Non - competitive inhibition

ليس للمثبط غير التنافسي التقليدي أي تأثير على ارتباط المادة الأساسية بالإنزيم وبالعكس، ترتبط كل من I , S بصورة عكسية عشوائية ومستقلة في مواقع مختلفة، فترتبط I مع E وكذلك مع ES ، وترتبط S بـ E وبـ EI، وبصورة عامة يتميز المركب المعقد المتكون بكونه غير نشط التحفيز.

Ser 195 – CH_2 – OH + $(CH_3)_2CH–O–P(F)(=O)–O–CH(CH_3)_2$ ⟶ Ser 195 – CH_2 – O – $P(=O)[O–CH(CH_3)_2]_2$ + HF

Diisopropylfluorophosphate (DFP) Diisopropyl enzyme (DIP enzyme)

$$\begin{array}{ccccc} E + S & \xrightleftharpoons{K_s} & [ES] & \xrightarrow{K_p} & E + P \\ + & & + & & \\ I & & I & & \\ \Updownarrow & & K_i \Updownarrow & & \\ EI + S & \xrightleftharpoons{K_s} & [ESI] & & \end{array}$$

$$K_S \frac{[E]\ [S]}{[ES]} = \frac{[EI]\ [S]}{[ESI]}$$

$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{\frac{[S]}{K_S}}{1 + \frac{[S]}{K_S} + \frac{[I]}{K_i}[E] + \frac{[S]\ [I]}{K_S K_i}[E]}$$

$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{[S]}{K_S\,(1 + \frac{(I)}{K_I}) + (S)\ (1 + \frac{(I)}{K_I})}$$

ومن الممكن تقدير تاثير المثبط غير التنافسي بصورة افضل بتقسيم كلا جانبي معادلة السرعة على القيم الموجودة بين الاقواس للحصول على المعادلة الآتية :

$$\frac{\frac{v}{V_{max}}}{(1+\frac{(I)}{K_i})} = \frac{[S]}{K_S + [S]}$$

او

$$\frac{v}{V_{max_i}} = \frac{[S]}{K_S + [S]}$$

حيث

$$V_{max_i} = \frac{V_{max}}{(1+\frac{(I)}{K_i})}$$

و Vmaxi هو الـ Vmax الظاهري بتركيـز معين من (I) كما هو متوقع، فالتأثير الوحيد المثبط غير التنافسي هو تقليل الـ Vmax وتبقى قيمة الـ Ks غير متغيرة الشكل.

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{max}}\ (1 + \frac{(I)}{K_i})\ \frac{1}{(S)} + \frac{1}{V_{max}}\ (1 + \frac{(I)}{K_i})$$

وتوضح المعادلة السابقة بأن كلاً من الميل والتقاطع للمحور يزداد بالعامل : $(1 + \frac{I}{K_i})$ موازنة بالرسم الظابط "Control plot" ، فإذا ازداد الميل والتقاطع لمحور 1/V بنفس العامل، فإن التقاطع للمحور1/V يبقى (مساويا الى 1/Km-). ويمكن حساب الـ Ki من الميل (Slope)، إذ من التقاطع للمحور 1/V، يمكن ايجاد رسم عكسي جديد لكل تركيز من المثبط.

9 - 5 تقسيم وترقيم الإنزيمات

9 - 5 - 1 تقيسم الإنزيمات

تقسم الإنزيمات إلى ست مجاميع حسب طبيعة التفاعل الذى تحفزه هذه العوامل المساعدة:

1 ـ الإنزيمات المؤكسدة والمختزلة Oxidoreductase

2 ـ الإنزيمات الناقلة .Transferases

3 ـ الإنزيمات الفاصلة بدون تميؤ . Lyases

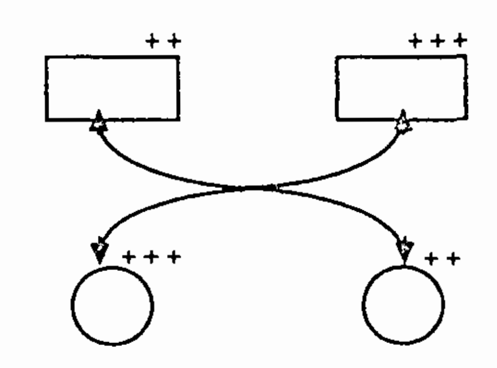
4 ـ الإنزيمات المميئة .Hydrolases

5 ـ الإنزيمات المتناظرة .Isomerases

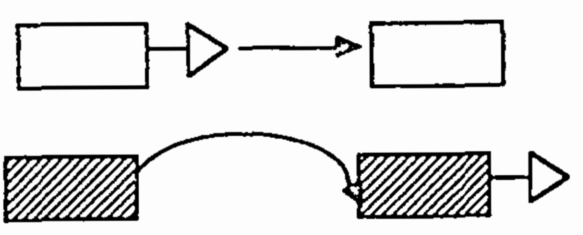
6 ـ الإنزيمات المكونة .Ligases

(1) الإنزيمات المؤكسدة والمختزلة:

وتشمل جميع الإنزيمات التي تعمل في تفاعلات الأكسدة والاختزال.

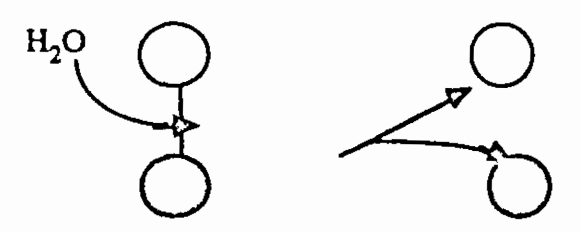


(2) الإنزيمات الناقلة:



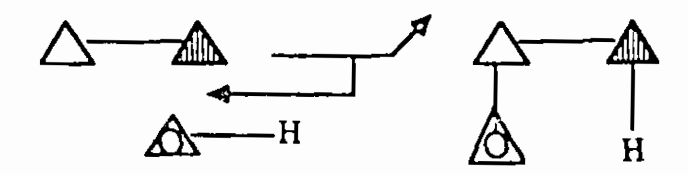
وتشمل جميع الإنزيمات التي تعمل في تفاعلات نقل مجموعات من مركب لآخر.

(3) الإنزيمات المميئة:



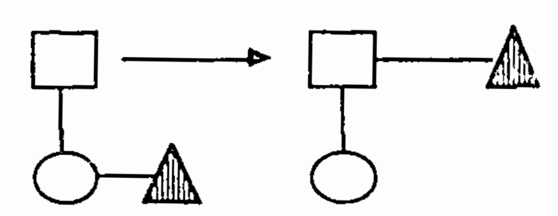
وتشمل جميع الإنزيمات التي تعمل في تفاعلات التحلل المائي.

(4) الإنزيمات الفاصلة بدون تميؤ:

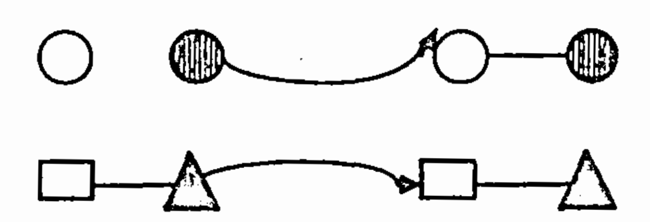


تشمل جميع الإنزيمات التي تعمل في تفاعلات تفكيك أجزاء من مركب، مثل فصل مجموعة أمين في صورة أمونيا أو نزع عناصر الماء مع مجموعة الامين في تحويل حامض الاسبارتيك الفيوماريك.

(5) الإنزيمات المتناظرة:



وتشمل الإنزيمات التي تغير أحد تشابهات مركب إلى التشابه الثاني مثل تغير التشابه الضوئي أو التشابه الهندسي.



(6) الإنزيمات المكونة:

الإنزيمات التي تعـمل في تكوين ارتباط أساسي في تلوين هيكل المركبات العضوية أو تكوين حلقي.

الإنزيمات المميثة Hydrolases

أ ـ C-O .

ب ـ C-N .

ج ـ O-P .

د ـ C-S .

يتم انشطار الآصرة الببتيدية بأحد هذه الإنزيمات :

$$R_1—\overset{\overset{O}{\|}}{C}—NH—R_2 + H_2O \longrightarrow \underline{R_1—\overset{\overset{O}{\|}}{C}—O^-} + H_3\overset{+}{N}—R_2$$

وتعتبر الإنزيمات المحللة للبروتينات "Proteolytic enzymes" مجموعة خاصة من الإنزيمات المميثة تسمى بالببتيديز الببتيدية.

الإنزيمات الفاصلة بدون تميؤ Lyasrs

وهي إنزيمات تقوم بإضافة أو إزالة :

أ ـ الماء Water .　　　ب ـ الامونيا Ammonia .

ج ـ ثاني اكسيد الكاربون CO_2

وتقـوم الإنزيمات الديكاربوكسـيليزيز decarboxylases بـإزالـة ثاني أوكسيد الكاربون من الاحماض الكيتونية بيتا (β- Keto acids) أو الأحماض الأمينية:

$$R-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O^- + H^+ \longrightarrow R-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-H + CO_2$$

كما تقوم الديهايدراتز dehydratases بإزالة الماء كما في حـالة تحفيز الإنزيم Citrate dehydratses للتـفـاعل الذي يتـضـمن تحول السـتريت إلى سز ـ اكونيتت Cis-aconitate :

$$\begin{array}{c} CH_2-COO^- \\ | \\ HO-C-COO^- \\ | \\ CH_2-COO^- \\ \text{citrate} \end{array} \xrightarrow[\text{dehydratase}]{\text{citrate}} \begin{array}{c} CH_2-COO^- \\ | \\ C-COO^- \\ \| \\ HC-COO^- \\ \text{cis-aconitate} \end{array} + H_2O$$

الإنزيمات المتناظرة Isomerases

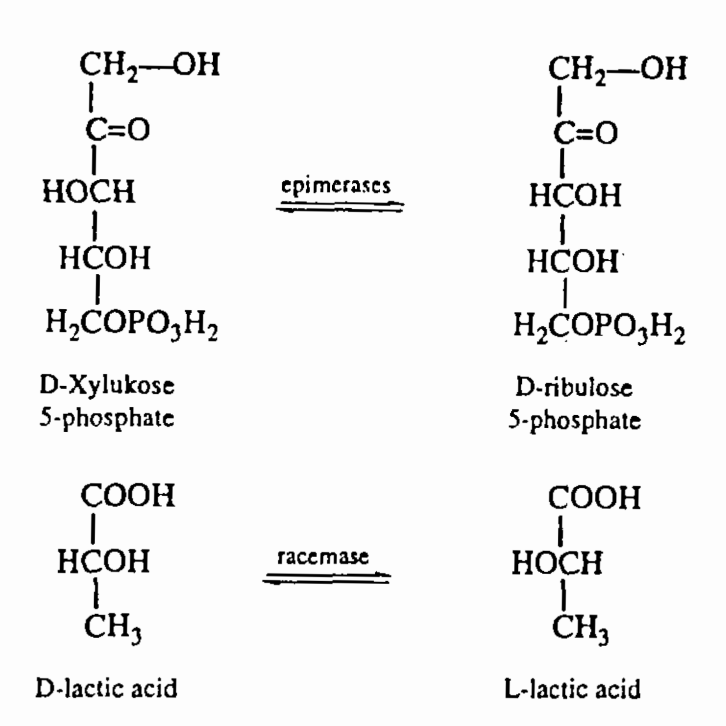
وهي من المجـامـيع الإنزيمـية غير المتجانسة التي تتضمن تحفيز التناظر بأنواعه المختلفة:

أ ـ السز ـ ترانس (cis- trans) .

ب ـ الكيتو ـ اينول (Keto- enol) .

جـ ـ تحولات الاليدوز ـ الكيتوز.

تحفز الايسوميرسز "isomerases" الانـقـلاب الـذي يحدث لذرات الكاربون غير المتناظرة وتتضـمن الابيميريز " epimerases" أو الراسميزز " racemasez " :



وتتضمن الإنزيمات الميوتيزز "Mutases". انتقال المجموعة الفعالة في داخل الجزيئة مثل الفوسفوريل. ومن الأمثلة الإنزيم Phosphoglycerate mutase الذي يحفز، 2 ـ فوسفوكليسيريت "Phosphoglycerate" إلى 3 ـ فوسفوكليسيريت "3-Phosphoglycerate".

COO^-, $H—C—O—P(=O)—OH$, $CH_2—OH$

2-phosphoglycerate

⇅ phosphoglyceromutase

COO^-, $H—C—OH$, $CH_2O—O—P(=O)(O^-)—OH$

3-phosphoglycerate

الإنزيمات المكونة Ligases

ويقصد بها الإنزيمات المسؤولة عن تحفيز التفاعلات البنائية، وتتضمن ارتباط جزيئين وتتطلب طاقة. ويستعمل عادة المركب ATP، ومن الامثلة البنائية:

أ ـ بناء الامينواسيل ر. ن. أ. الناقل Amino acyl tRNA

ب ـ إضافة ثاني أوكسيد الكاربون إلى البيروفيت بواسطة الإنزيم البيروفيت كاربوكسيليز (Pyruvate carnboxylase) الذي يحفز التفاعل التالي :

$$ATP + HCO_3 + \underset{\text{البايروفيت}\ CH_3}{\overset{COOH}{|}}\!\!C{=}O \xrightarrow{\text{البايوتن}} \underset{\underset{COOH\ \text{الاكسالواسيتين}}{|}}{\overset{COOH}{|}}\!\!C{=}O(CH_2) + ADP + Pi$$

9 - 5 - 2 ترقيم الإنزيمات Numbering of Enzymes

لكل إنزيم رقم يتكون من 4 عناصر، مفصولة عن بعضها بنقاط ومنظمة بالقواعد التالية :

أ ـ الرقم الاول يمثل المجموعة التي ينتمي إليها الإنزيم 1 ,2 ,3 ,4 ,5.

ب ـ الرقم الثاني يمثل الصنف الإضافي لهذه المجموعة (sub- class).

لمجموعة الإنزيمات المؤكسدة والمختزلة مثلاً يعبر هذا الرقم عن طبيعة المجموعة الواهبة donar groups والتي تحصل فيها الاكسدة:

1 ـ يمثل مجموعة CHOH.

2 ـ يمثل مجموعة الالدهايد أو الكيتون.

كما هي موضحة في الملاحق المرفقة، أما الإنزيمات التابعة للمجموعة الناقلة، فالرقم الثاني يمثل طبيعة المجموعة الناقلة. أما الرقم نفسه للانزيمات المميئة (Hydrolases) فيمثل نوع الأصرة التي تتميأ وكذلك نوع الأصرة التي تتكسر بين

المجـمـوعـة التـاركة وتلك الباقية للإنزيمات الفاصلة بدون تميؤ. ويوضح الرقم الثاني نـوع التناظر Isomerases للإنزيمات المتناظرة Isomerases . وكـذلك نوع الاصرة التي تتكون للإنزيمات المكونة (Ligases).

جـ ـ الرقم الثـالث يمثل الصنف الاضافي المضاف Sub- subclass حيث إن المجموعة المسـتلمة I, accepter . تمـثـل الإنـزيـم المسـاعـد NAD ويخـتـلـف الرقم في السايتوكروم 3Cytochrome والاوكسـجين الجزيئي molecular Oxygen ....الخ، للإنزيمات المؤكسدة والمختزلة.

أمـا الرقم الثـالث في المجـمـوعة الناقلة فيمثل نوع المجموعة المستلمة، فقد تكون مجمـوعـة الـكاربون (كـالمثـيل والكربوكسـيل ...الخ). وللمـجـمـوعـة الممـيئة (Hydrolases) يوضح بصـورة دقيقة نوع الآصرة المميئة وطبيعة المجموعة المزالة Lyase. أمـا الإنزيمات المتناظرة، فـالرقم الثـالث يعبر عن طبـيعة التحولات التي تحصل، أما الإنزيمات المكونة لهذا الرقم فتوضح طبيعة المواد المكونة.

د ـ الرقم الرابع والذي يطلق عليـه الرقم التـسلسلي (Seroal Number) فهو مضاف اعتباطاً بدون تمثيل حقيقي له.

مصـــــادر

1 ـ الكيـمـيـاء الفـيـزيائيـة الحـياتية وتطبيقاتها في الكيمياء الحياتية وفي علم الأحياء الجزيئي ترجمة الاستاذ الدكتور سامي عبد المهدى المظفر / بغداد/ 1984.

2 - Comprehensible Biochemistry by Michael Yudkin and Robin Offord . 1973.

3 - Cell Biology, Structure, Biochemistry and Function, Second edition, Phillip Sheeler Donald E. Bianchi.

4 - Principles of Biochemistry by Lehninger, Worth Prblisher Inc. 1982.

5 - Biochemistry: ASybopsis Bianes. Colby, 1985.

6 - Physical Biochemistry, Applications to Biochemistry and Molecular Biology.

7 ـ أساسيات علم الحياة الجزيئي بقلم د. خضر الجوراني، 1989.

8 - Biochemistry by Stryer, 1983.

أساسيات
الكيمياء الحياتية



